



UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

THÈSE DE DOCTORAT

(Spécialité : Océanologie Biologique)

Présentée par

Jorge Eduardo Chávez Villalba

Pour obtenir le titre de Docteur de
l'Université de Bretagne Occidentale

Conditionnement expérimental de l'huître

Crassostrea gigas

Soutenue le 26 novembre 2001 devant la commission d'examen :

Mesdames, Messieurs,

Marcel LE PENNEC, Directeur de thèse

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

Jean Claude COCHARD, Directeur scientifique

Directeur de laboratoire IFREMER – Brest, France

Carlos CACERES-MARTINEZ, Rapporteur

Professeur à l'Université de la Basse Californie Sud, La Paz, B.C.S. Mexique

Philippe GOULLETQUER, Rapporteur

Directeur de laboratoire IFREMER - La Tremblade, France

Michel MATHIEU, Examineur

Professeur à l'Université de Caen, Caen, France

Liliane NONNOTTE, Examineur

Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

SOMMAIRE

Résumé

I – Introduction 4

II – Matériel et méthodes 13

Conditions expérimentales	15
Conditionnement standard	15
Indices physiologiques	17
Histologie	18
Classification des stades de reproduction	19
Analyse d'image	20
Analyse biochimique	21
Obtention de gamètes	23
Taux d'éclosion et élevage larvaire	24
Analyse statistique	25

III – Classification des différents stades de maturation gonadique chez *Crassostrea gigas*

Introduction	27
Conditions expérimentales	28
Paramètres étudiés	28
Résultats	29
Discussion	36
Conclusion	38

IV – Conditionnement automnal chez *Crassostrea gigas* : Effet de la température et la photopériode

Introduction	39
Conditions expérimentales 1998	41
Paramètres étudiés	43
Résultats 1998	44
Conditions expérimentales 1999	50
Paramètres étudiés	52
Résultats 1999	53
Discussion	63
Conclusion	71

V – Conditionnement, production d'ovocytes et élevage larvaire de différentes lots de *Crassostrea gigas*

Introduction	73
Conditions expérimentales	74
Paramètres étudiés	75
Résultats	76
Discussion	99
Conclusion	105

VI – Caractéristiques cytologiques et biochimiques de *Crassostrea gigas* en réponse à l'apport ou à la privation de nourriture pendant le conditionnement

Introduction	107
Conditions expérimentales	110
Paramètres étudiés	112
Résultats	113
Discussion	138
Conclusion	145

Conclusion générale	147
----------------------------	-----

Références bibliographiques	151
------------------------------------	-----

Résumé

Conditionnement artificiel de l'huître *Crassostrea gigas*. En France, 90 % de la production annuelle de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, provient des larves captées dans les bassins de Marennes-Oléron et d'Arcachon. Cependant, la collecte du naissain présente de fortes irrégularités inter-annuelles et les ostréiculteurs expriment de plus en plus souvent un besoin de naissains en dehors de la période de reproduction. Ainsi le rôle des écloséries dans la production de naissains de l'huître japonaise en France devient de plus en plus évident. Cependant, l'état actuel des connaissances sur la reproduction de l'huître creuse en conditions contrôlées est limité, et les professionnels des écloséries doivent affronter divers problèmes pour optimiser le conditionnement de géniteurs de manière à obtenir des élevages larvaires en bonne santé et un allongement de la saison de reproduction. Pour y répondre, nous avons réalisé une étude sur trois aspects qui nous paraissent essentiels; i) l'incapacité de produire des gamètes et des larves viables pendant une période réfractaire, dite de « repos sexuel » qui se déroule en automne sous nos latitudes ; ii) le manque de connaissance de l'effet de paramètres environnementaux sur le développement gamétique de *C. gigas* en laboratoire, dont la température et la photopériode ; iii) l'influence du site d'origine des reproducteurs (quel est leur état physiologique ?) utilisés pour la production de gamètes et l'impact de la saison à laquelle sont faites les expérimentations. Ces études nous ont permis d'établir que l'horloge interne qui régule la gamétogenèse chez *C. gigas* peut être modifiée par l'influence des facteurs du milieu, en particulier par la température. De cette façon, la production d'ovocytes et de larves viables est possible pendant la période de « repos sexuel » de cette espèce. La reprise de la gamétogenèse se produit lorsque la température se trouve encore dans une phase décroissante, approximativement à 12 °C, et nous avons observé que la photopériode n'exerce pas un rôle majeur sur la reprise de l'activité gamétique. Le fait d'étudier différents lots d'animaux de la côte atlantique (baie des Veys, Aber Benoît, Baden, Bouin, La Tremblade et Arcachon) nous a permis d'observer que les huîtres présentent une adaptation très significative aux conditions environnementales particulières à chaque site de culture, et que cette adaptation n'est pas d'origine génétique puisque les huîtres utilisées dans nos recherches ont toutes été captées dans la même localité (bassin d'Arcachon). Cette adaptation se traduit également par une réponse différente des huîtres de chaque région aux expériences de conditionnements en laboratoire. Les individus des régions les plus nordiques, baie des Veys et Aber Benoît, possèdent un stock plus important de réserves et présentent les meilleures performances en laboratoire : une proportion plus élevée d'ovocytes matures à la fin des conditionnements et une production plus importante d'ovocytes après la scarification de la gonade. L'étude biochimique a montré que les huîtres de la baie des Veys utilisent les glucides comme support de la gamétogenèse tandis que ceux du sud (La Tremblade), à part les glucides, utilisent leurs protéines comme source principale pour le développement des ovocytes. Les huîtres de la baie des Veys et de l'Aber Benoît maintenues sans nourriture, présentent une évolution de la gamétogenèse identique à celle des animaux nourris. Toutefois, les huîtres nourries produisent significativement plus d'ovocytes que celles non nourries. Il semble que la quantité d'ovocytes produits en conditions artificielles dépende directement de la nourriture offerte pendant le conditionnement. Cependant, pour l'élevage larvaire, il n'existe pas de différences significatives des taux de rendement larvaire (larves « D ») entre les lots d'huîtres nourries et non nourries. Ainsi, la qualité des ovocytes semble liée non seulement à la quantité et à la qualité de la nourriture fournie pendant le conditionnement, mais également à la quantité et à la qualité de réserves accumulées par les huîtres durant leur séjour en mer. La reprise de la gamétogenèse de *C. gigas* semble répondre à deux facteurs ; la disponibilité de nourriture et une température minimale spécifique pour chaque lot d'huîtres qui peut varier selon la situation géographique. Les résultats de notre étude indiquent que *C. gigas* en France présente un cycle de reproduction flexible qui s'adapte aux différentes conditions environnementales rencontrées dans chaque site d'élevage et que sont ces conditions qui régulent l'entrée et la durée de la gamétogenèse de chaque lot.

I - Introduction

- **Origine de *Crassostrea gigas* en France**

Crassostrea gigas (Thunberg, 1793), communément appelée huître japonaise, est originaire des côtes du Pacifique Nord. Elevée au Japon depuis des siècles (Korringa, 1976), sa culture est aujourd'hui pratiquée dans beaucoup de pays à travers le monde. En effet, les qualités de cette espèce (croissance rapide, eurythermie et euryhalinité, résistance aux manipulations lors de conditionnement en laboratoire,..) ont rendu possible son introduction dans plusieurs autres régions du globe, depuis les eaux chaudes de la côte nord du Mexique (Cáceres *et al.*, 1990; Ramírez *et al.*, 1990), ou de Hong-Kong aux eaux plus tempérées de la Nouvelle-Zélande et de l'Europe de l'Ouest, jusqu'aux eaux plus froides du Canada.

C. gigas a été réintroduite en France en 1966 pour remplacer les populations anciennement établies, connues sous le nom d'huître portugaise, *Crassostrea angulata*, victime d'une épizootie (Chevalier *et al.*, 1975), et dont la disparition des côtes françaises mit en péril l'ostréiculture française (Grizel et Héral, 1991). Les autorités responsables décidèrent d'importer une espèce qui puisse s'adapter aux conditions environnementales des côtes françaises, et sélectionnèrent l'huître japonaise comme alternative pour redémarrer l'industrie ostréicole. Des importations industrielles de naissains depuis le Japon et de géniteurs provenant de la Colombie britannique (Canada) furent réalisées de 1971 à 1975 (Soletchnik *et al.* 1998).

- **La production française de *C. gigas***

L'huître creuse s'est parfaitement acclimatée aux côtes sud-ouest de la France et a colonisé progressivement les zones estuariennes laissées vacantes par la disparition de l'huître portugaise, ainsi que des sites où *C. angulata* ne s'était pas implantée (His, 1984; Shatkin *et al.*, 1997). Cela a permis l'arrêt des importations dès le début de l'année 1982 (Mann, 1983). Les taux de captage de naissains enregistrés dans les bassins de Marennes-

Oléron et d'Arcachon témoignent du succès de la reproduction de *C. gigas* sur les côtes françaises. En 1976 la production d'huître japonaise sur les côtes françaises était estimée à 80000 tonnes, et depuis 1994 la production nationale s'élève à 150000 tonnes par an, plaçant la France au quatrième rang mondial et au premier rang européen des pays producteurs d'huître creuse *C. gigas* (Sauriau *et al.*, 1997 ; FAO, 1998) (Fig. I - 1).

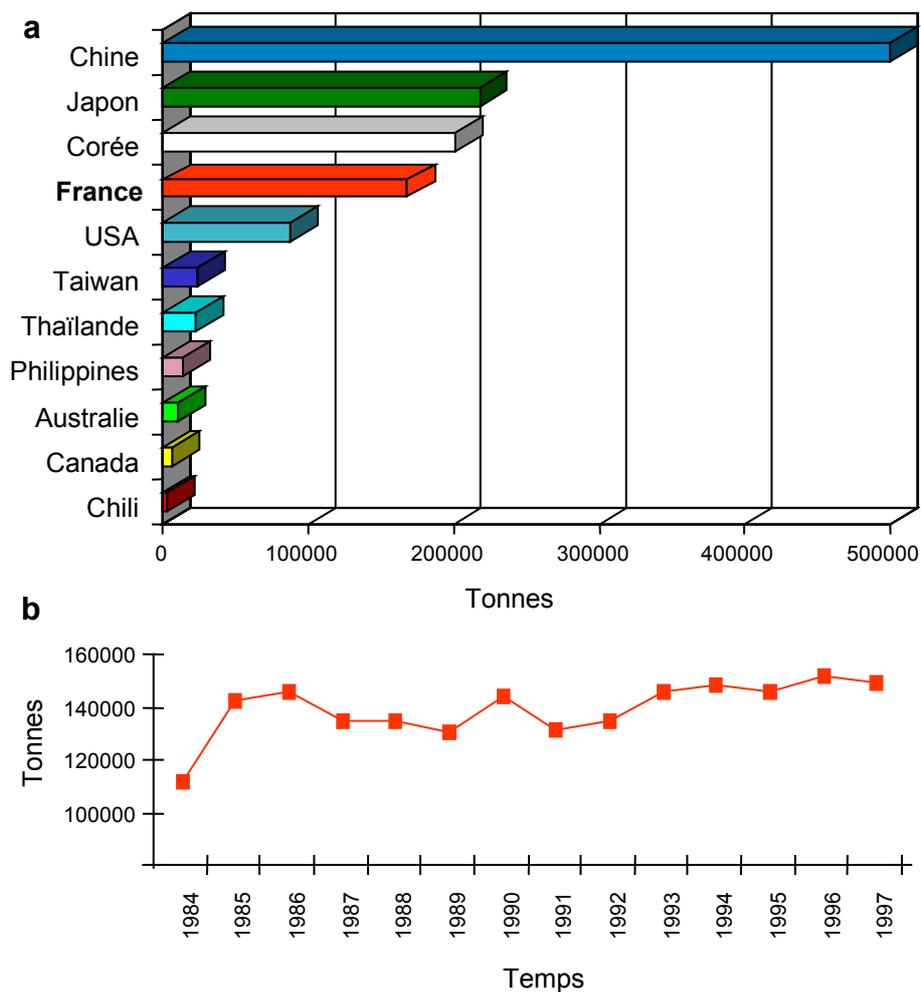


Fig. I - 1. a Principaux pays producteurs de l'huître creuse *Crassostrea gigas*. **b** Production d'huître creuse en France (FAO, 1998).

- **Le déroulement de l'ostréiculture en France**

La culture de l'huître creuse s'effectue en quatre phases successives: le captage du naissain, le pré-grossissement, l'élevage et l'affinage. Le captage du naissain naturel s'effectue avec divers collecteurs artificiels (tubes en plastique, pieux en ardoise, etc.) qui sont disposés dans le milieu naturel afin de permettre la fixation de larves pédivéligères. Chez l'huître creuse la fécondation des ovocytes se produit dans l'eau. Puis, les divisions cellulaires s'enchaînent et, au bout de 24 à 48 heures, la larve commence à sécréter sa coquille. Les larves ont une vie pélagique et après 21 jours dans l'eau, un pied se développe, et c'est à ce moment que les larves cherchent à se fixer sur un substrat définitif. En France, 90 % de la production annuelle de l'huître provient des larves captées dans les bassins de Marennes-Oléron et d'Arcachon. La phase de pré-grossissement consiste à placer les naissains dans des poches ostréicoles, à effectuer un éclaircissement des collecteurs (diminution de leur densité au m²), ou bien encore à semer à plat les huîtres non dégrappées sur les parcs. L'élevage se pratique après détroquage des jeunes huîtres, âgées de 6 à 18 mois, des collecteurs sur lesquelles elles sont fixées. Il s'effectue à plat sur la zone intertidale ou en eaux profondes, en surélévation sur tables - les huîtres étant mises en poches, ou bien sur des filières - les huîtres étant suspendues et fixées sur des fils (en Méditerranée). L'affinage consiste à séparer les huîtres en faible densité dans les « claires ostréicoles » pour qu'elles bénéficient des développements phytoplanctoniques typiques de ces biotopes et en particulier de la navicule bleue *Haslea ostrearia* (Sauriau *et al.*, 1997) (Fig. 1 - 2).

La collecte du naissain présente de fortes irrégularités inter-annuelles du fait notamment des variabilités hydroclimatiques et du nombre trop important de collecteurs mis en place dans les bassins d'élevage (Robert et Gérard, 1999). Par ailleurs, la proportion de juvéniles issus d'écloseries commerciales (15%) est insuffisante pour couvrir une demande de naissains croissante en dehors de la saison naturelle de captage (Devauchelle *et al.*, 1995). Aussi, les ostréiculteurs expriment de plus en plus souvent une demande de naissains d'autant qu'il s'agit désormais de répondre à une situation économique nouvelle liée à

l'intervention grandissante de la grande distribution dans le marché ostréicole qui commercialise désormais une part importante des huîtres produites en France, notamment lors de ventes massives promotionnelles.

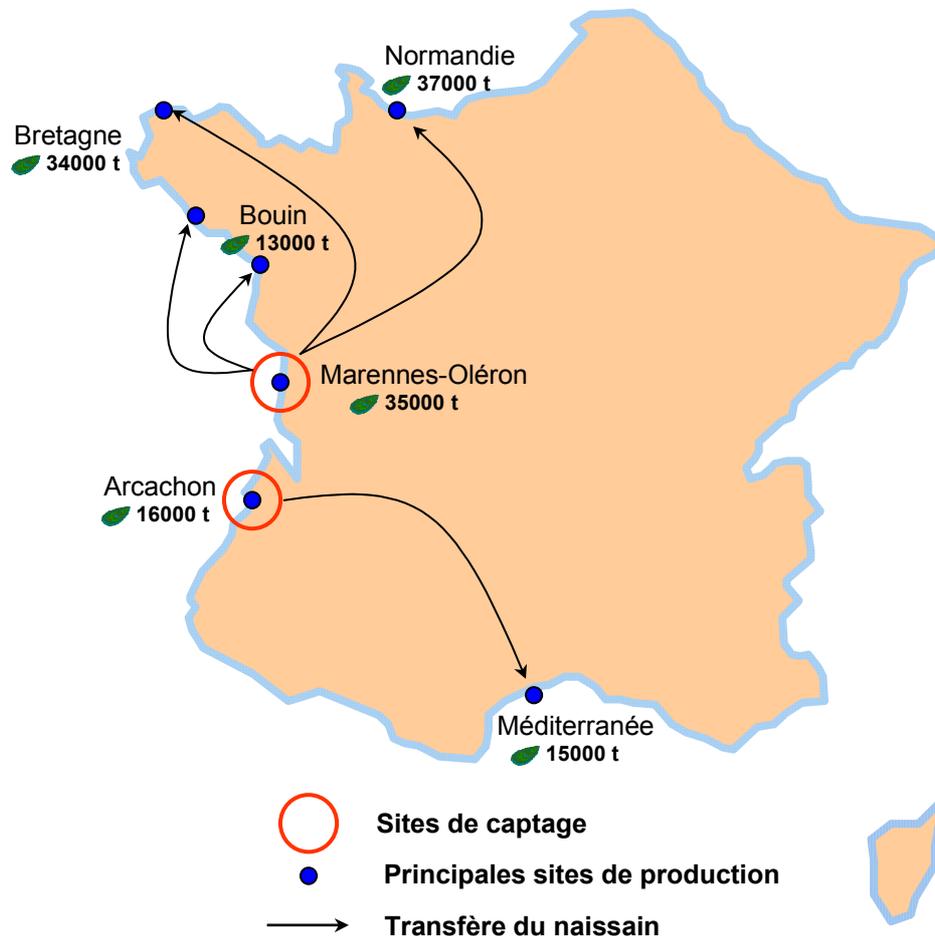


Fig. 1 – 2. Les principaux bassins ostréicoles français (FIOM, IFREMER).

- **Les conditionnements des géniteurs en éclosion**

Le rôle des éclosiers dans la production de naissains de l'huître japonaise en France devient de plus en plus important. Bien que six éclosiers de bivalves produisent actuellement des juvéniles pour l'industrie ostréicole française, leur rôle reste précaire et les professionnels des éclosiers rencontrent encore de nombreuses difficultés à s'adapter à la demande des ostréiculteurs (Robert et Gérard, 1999). Même si les techniques de

conditionnement de géniteurs et d'élevage larvaire sont utilisées en routine, il subsiste de profondes lacunes quant aux connaissances de la physiologie de la reproduction de cette espèce. Les pratiques couramment utilisées en écloserie consistent en un conditionnement des géniteurs pendant six à huit semaines, en milieu contrôlé, de manière à provoquer la gamétogenèse. Théoriquement ceci permet d'obtenir des gamètes matures donnant naissance à des larves viables lorsque les géniteurs sont prélevés du milieu naturel entre décembre et juillet. Cependant, l'un des objectifs premiers des écloséries, à savoir la production régulière de larves de qualité en nombre suffisant pendant toute l'année, n'est pas envisageable dans l'immédiat.

- **Problèmes relatifs aux conditionnements des reproducteurs**

L'état actuel des connaissances sur la reproduction de l'huître creuse est limité. Une maîtrise des relations entre les animaux et leur milieu est nécessaire à tous les stades de développement impliquant une connaissance des paramètres environnementaux et la réponse des principales fonctions biologiques, notamment les relations nutrition - reproduction. En conditions contrôlées, des améliorations importantes sont nécessaires pour optimiser le conditionnement de géniteurs de manière à obtenir des élevages larvaires en bonne santé et un allongement de la saison de reproduction. Toutes ces considérations nous ont motivé pour entreprendre des recherches permettant d'améliorer le conditionnement des géniteurs de *C. gigas*, et pouvoir ainsi répondre aux problèmes rencontrés par les professionnels des écloséries. Parmi ces problèmes trois nous paraissent essentiels :

- l'incapacité de produire des gamètes et des larves viables pendant une période réfractaire, dite de « repos sexuel » qui se déroule en automne sous nos latitudes ;
- la manque de connaissance de l'effet des paramètres environnementaux sur le développement gamétique de *C. gigas* en laboratoire, dont la température et la photopériode ;

- l'influence du site d'origine des reproducteurs (quel est leur état physiologique ?) utilisés pour la production de gamètes et l'impact de la saison à laquelle sont faites les expérimentations.

Pour donner des réponses à ces questions, nous avons besoin d'avoir auparavant certains éléments concernant le déroulement du cycle sexuel de cette espèce. Pour cette raison, dans la première partie de notre étude nous avons établi, en collaboration avec des chercheurs du Laboratoire de Physiologie des Invertébrés de l'IFREMER (ILP/IFREMER), une classification des stades de reproduction en se basant sur des caractères qualitatifs et quantitatifs. Cette « échelle reproductive » est à la base de tout le travail de description des événements reproductifs observés pendant le déroulement de toutes les expériences (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Nous avons également réalisé des expériences avec des stagiaires du DEA d'océanologie biologique et environnement marin pour connaître le temps nécessaire pour l'obtention des premiers ovocytes matures dans un conditionnement pratiqué en routine en écloserie et, aussi, pour déterminer l'impact des différentes températures de conditionnements sur la gamétogenèse de *C. gigas*. Les résultats de ces travaux nous ont permis de disposer d'éléments pour la description, l'interprétation et la discussion des événements observés dans notre étude des conditionnements et de facteurs agissant sur les gamétogenèses. Les travaux ont fait l'objet d'une publication (Chávez-Villalba *et al.*, 2001), jointe en annexe.

→ « *Repos sexuel* »

Dans la deuxième partie de notre étude, nous nous sommes intéressés aux problèmes de conditionnement de *C. gigas* pendant la période de « repos sexuel ». Durant cette époque toutes les expériences réalisées en laboratoire pour obtenir du naissain et utilisant la méthode standard qui consiste à alimenter abondamment les huîtres à une température élevée (19 °C), se soldent par des échecs. Différents auteurs signalent que, fréquemment, les bivalves ne sont pas réceptifs aux conditions environnementales pendant cette période ;

que ce soit des ostréidés, comme *Ostrea edulis* (Wilson, 1981), ou des pectinidés comme *Pecten maximus* (Cochard et Devauchelle, 1993) ou *Argopecten purpuratus* (Le Pennec *et al.*, 1998). Cependant, peu d'études rapportent les problèmes rencontrés pendant le conditionnement de *C. gigas* au cours de cette période qui sous nos latitudes se situe en automne. Il est connu que les modifications des paramètres physiques du milieu pendant le conditionnement peuvent agir sur le développement de la gonade, en accélérant la gamétogenèse ou en retardant la maturation des gamètes (Loosanoff et Davis, 1952). En observant les paramètres environnementaux pendant l'automne, on s'aperçoit que la température de l'eau reste relativement élevée (15 à 20 °C selon les régions du littoral atlantique français) alors que la photopériode se trouve dans une phase décroissante. La reprise de la gamétogenèse chez *C. gigas* est observé dès janvier alors que les températures diminuent encore. Ces observations semblent indiquer que la température n'exerce peut-être pas un rôle dominant sur la reprise de la gamétogenèse et que l'influence d'autres facteurs comme la photopériode sur le cycle de reproduction de cette espèce pourrait être déterminante. Malheureusement, il existe très peu d'information concernant l'effet de la photopériode sur la reproduction des bivalves. C'est pourquoi une partie de nos recherches a consisté à étudier expérimentalement l'implication et l'importance relative de la température et de la photopériode sur la reprise de l'activité reproductrice chez *C. gigas* pendant la période automnale.

→ *Influence de l'origine des reproducteurs et de la saison*

La troisième partie de nos recherches, porte sur l'étude de l'effet de l'origine des géniteurs et de la saison sur la gamétogenèse. L'origine géographique joue t'elle un rôle sur les conditionnements de reproducteurs en éclosérie ?. Peu d'informations sont disponibles sur le cycle de reproduction de *C. gigas* sur les côtes françaises, ainsi que sur la variabilité géographique qu'il peut présenter. Les observations actuelles en France témoignent d'une fixation de naissains jusqu'en Normandie, mais seuls les bassins d'Arcachon, de Marennes-Oléron et de Gironde donnent lieu à un captage commercial. En Normandie on n'enregistre

pas de recrutement significatif et, dans la région des Abers au nord de la Bretagne, aucune émission gamétique significative n'est constatée dans les gonades et les ovocytes produits sont progressivement résorbés, dans cet organe, au cours de l'automne. Pourtant, on peut s'attendre à des variations géographiques notables de ce cycle chez *C. gigas* sur les côtes françaises. L'étude en conditions contrôlées de la réponse reproductive de différentes lots provenant de divers sites choisis uniquement sur le littoral atlantique devrait nous permettre d'analyser les possibles variations que présente le cycle de reproduction de cette espèce (pour raisons de programme nous nous sommes intéressés uniquement aux huîtres du littoral atlantique) .

→ *Etat physiologique des reproducteurs*

Dans la troisième partie de notre étude nous nous sommes intéressés aussi à l'effet de la température et des réserves sur le développement des gamètes. Lannan *et al.* (1980) précisent l'importance des variations saisonnières dans les systèmes de conditionnements artificiels indiquant que le succès dans la reproduction dépend de l'état des réserves que possèdent les géniteurs au moment de l'expérimentation. Chez les bivalves des régions tempérées, l'énergie de réserve (fréquemment sous forme de glycogène) constituée au cours de l'automne et l'hiver, est utilisée pour supporter la gamétogenèse durant le cycle sexuel de l'année suivante (Thompson et MacDonald, 1990). Il apparaît que chez *C. gigas* l'accumulation de réserves et la production de gamètes se produisent à des saisons différentes. Selon la littérature concernant d'autres espèces de régions tempérées (Emmett *et al.*, 1987 pour *Mytilus edulis*, Le Pennec *et al.*, 2001 pour *Pecten maximus*), pendant le printemps et l'été, les glucides peuvent être utilisés pour le développement de la gonade, et les réserves de glycogène pour les dépenses énergétiques quand la nourriture est insuffisante. Il en est de même pour *C. gigas* et ainsi, l'accumulation et l'utilisation de réserves au cours du cycle sexuel semblent rendre possible un conditionnement de géniteurs sans apports supplémentaires d'aliments. Bien que les régimes alimentaires soient cruciaux pendant le conditionnement et pour le développement larvaire, quelques

expériences ont prouvé que des animaux soumis à un apport nutritif partiel ou à une privation complète de nourriture - ce qui modifie sensiblement la composition biochimique de la gonade pendant la gamétogenèse - sont quelquefois capables de produire des larves viables (Utting et Millican, 1997). Certaines expériences en laboratoire ont montré que des huîtres présentant un certain stock de réserves et soumises durant le conditionnement à un jeûne complet sont capables de produire des larves viables (Breese et Malouf, 1975 ; Cochard, 1998). L'étude du rôle des réserves sur la gamétogenèse de *C. gigas* en conditions contrôlées en parallèle avec celui de la température devrait nous permettre de définir de nouvelles stratégies pour les conditionnements en éclosion de cet ostréidé.

II - Matériel et méthodes

Dans chaque chapitre seront données des précisions sur le nombre d'huîtres utilisées, leur origine, les conditions expérimentales, les paramètres étudiés et selon le cas, les méthodes ou techniques particulières à une expérience donnée.

Il serait nécessaire de préciser que dans toutes les expériences réalisées dans notre étude, les huîtres utilisées provenaient de « l'animalerie » mis en place par le LPI (IFREMER/Brest). Ces huîtres proviennent du captage réalisé chaque année dans le bassin d'Arcachon. Elles ont été pré-élevées pendant une année à Larmor Baden, puis des lots de 800 – 1000 individus ont été constitués (200 ind/poche ostréicole) et placés sur chacun des sites d'élevage en mars – avril à l'âge de 18 mois. Le site d'élevage a été choisi à la même hauteur d'eau (coefficient de marée 80) et l'entretien des poches était assuré par l'ostréiculteur qui possédait la concession. Les reproducteurs ont séjourné 6 à 8 mois sur les sites avant les premiers prélèvements, leur âge était donc pour chacune des expériences réalisées compris entre 2 ans et demi (pour les expériences de 1998) et 3 ans et demi (pour les expériences de 1999).

Les sites d'élevage se trouvent dans diverses stations de l'IFREMER, qui a mis en place un réseau de suivi de la croissance de l'huître creuse dans les principaux bassins français. Le réseau ainsi mis en place en 1993 est dénommé « **Réseau Mollusques du Département Ressources Aquacoles** » ou « REMORA ». Les lots considérées dans le cadre de nos recherches sont nommées selon leur site d'origine, soit du nord au sud du littoral atlantique française : la baie des Veys (Normandie), Aber Benoît et Baden (Bretagne), Bouin (Vendée), La Tremblade (Poitou Charente) et Arcachon (Aquitaine) (*Fig. II - 1*).

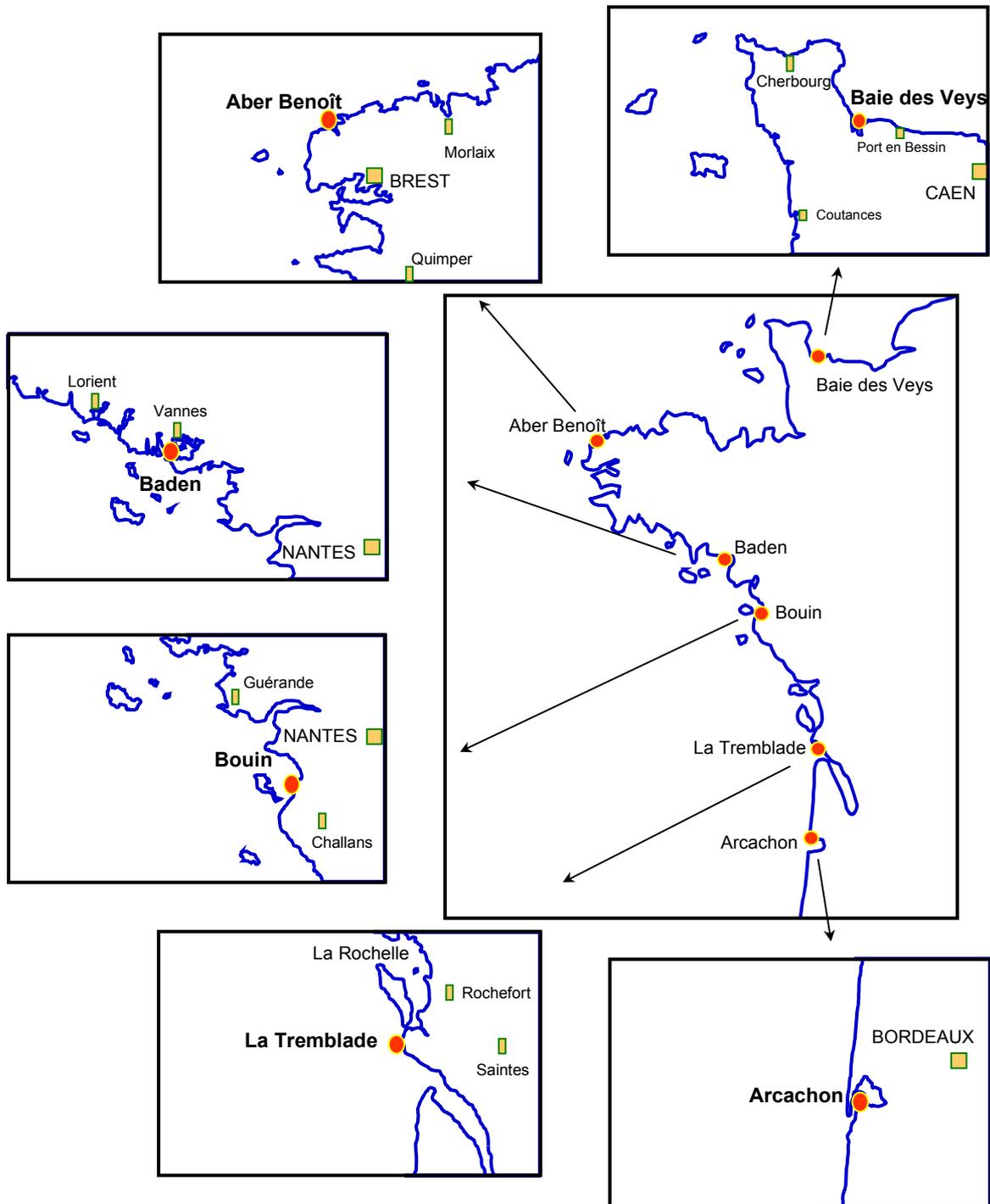


Fig. II – 1. Localisation géographique des sites ostréicoles considérés dans cette étude.

Conditions expérimentales

Toutes les expériences de conditionnement de géniteurs et d'obtention des gamètes ont été réalisées au centre IFREMER de Brest.

Les huîtres ont été prélevées à partir de différents sites ostréicoles (*Fig. II - 1*). Dès leur arrivée au centre, les animaux ont été détroquées et nettoyées afin d'éliminer les épibiontes fixés sur la coquille. Avant de commencer les expériences, les huîtres ont été placées une semaine dans des bacs d'acclimatation où la température et la salinité de l'eau ont été réglées sur celles du milieu naturel au moment de la récolte. Après cette période d'acclimatation et selon le cas, les animaux ont été divisés en deux groupes: les huîtres destinées au conditionnement et celles utilisées pour l'expérience de troussage (pour reprendre l'équivalent français du terme usuel anglais « stripped ») (voir obtention de gamètes, p. 23).

Conditionnement standard

Les huîtres ont été réparties aléatoirement en proportions identiques dans les bacs de maturation. Le conditionnement a été réalisé suivant la technique de routine utilisée dans les écloséries. Les bacs sont thermostatés et alimentés en eau de mer pré-filtrée à environ 50 µm sur filtre à sable. La salinité est de l'ordre de 34 ‰. Le débit de renouvellement de l'eau est de 30 litres/heure, et l'homogénéisation et l'oxygénation de la masse d'eau est assurée par un système « air lift ». La photopériode est maintenue à 16 heures d'éclairement journalier à l'aide de lampes de néon de type « lumière du jour » commandées par des chronorupteurs. Les conditions dans les bacs de maturation sont maintenues jusqu'à la fin de l'expérience. Les bacs sont vidangés et nettoyés tous les cinq jours pendant l'expérience. (*Fig. II - 2*)

Le régime alimentaire utilisé pendant le conditionnement standard est composé d'un mélange de deux algues phytoplanctoniques vivantes, *Isochrysis aff galbana* (T-iso) Green (50 %) et *Chaetoceros calcitrans* Takano (50 %), habituellement utilisé dans les écloséries (Robert et Trintignac, 1997). Ce mélange est fourni en continu et la quantité distribuée quotidiennement est de 10^9 cellules/jour/animal pour chaque espèce (Fig. II – 3).



Fig. II – 2. Bac de maturation pour le conditionnement des huîtres (*Crassostrea gigas*). Système de régulation de la température (en encadré).

Indices physiologiques

Les individus ont été collectés au hasard dans les bacs de maturations et les longueurs, largeurs et épaisseurs, et poids total ont été déterminés (*Fig. II - 4*). Après ouverture des animaux et selon les besoins de chaque expérience, la totalité des tissus ou l'ensemble gonade - glande digestive (nommé gonade), et le reste (nommé chair), ont été détachés de la coquille et mis dans des nacelles en aluminium préalablement tarées et marquées, puis pesés afin de déterminer le poids humide. Les échantillons ainsi traités ont été conservés au congélateur à -20° C jusqu'à l'étape de lyophilisation pour déterminer le poids sec. Les coquilles ont été mises à sécher à l'air libre pendant 48 heures avant d'être pesées. Du point de l'ontogénèse, la longueur est la plus grande dimension parallèle à l'axe de la charnière. Cependant, comme les professionnels, nous considérerons ici la longueur comme étant la plus grande dimension de l'huître (*Fig. II - 4*).

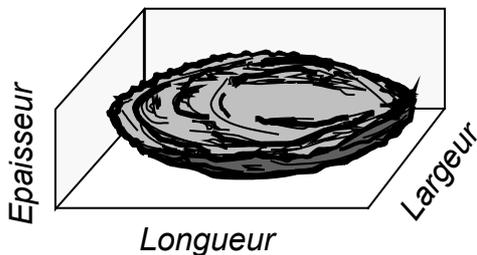


Fig. II - 4. Mensurations effectuées sur les huîtres lors de l'échantillonnage.

L'indice de Walne et Mann (1975) a été utilisé dans la plupart des expériences. Cet indice, absolu, estime le métabolisme dirigé vers le processus de gamétogénèse ou le stockage du glycogène (Crosby et Gale, 1990). La formule est la suivante:

$$IWM = \frac{PSC h * 1000}{PSC}$$

Où *IWM* est l'indice de Walne et Mann, *PSC_h* est le poids sec de la chair en grammes et *PSC* est le poids sec de la coquille en grammes

Histologie

Une pièce standard de masse viscérale a été coupée juste au-dessus de la cavité péricardique chez chaque individu échantillonné pour l'étude histologique et elle a été fixée au liquide de Bouin durant 48 heures. Les échantillons ont ensuite été déshydratés dans des bains successifs d'éthanol de degré croissant et de deux bains de toluène, pour finalement être inclus dans la paraffine (*Tableau II - 1*).

Tableau II – 1. Protocole pour l'histologie : déshydratation

Étapes de déshydratation	
Ethanol 70°	1 heure
Ethanol 70°	1 heure
Ethanol 95°	1 heure
Ethanol 95°	1 heure
Ethanol 95°	1 heure
Ethanol 100°	1 heure 30 minutes
Ethanol 100°	1 heure 30 minutes
Ethanol 100°	1 heure 30 minutes
Toluène	2 heures
Toluène	2 heures
Paraffine I	10 heures
Paraffine II	2 heures

Des coupes de 5 µm d'épaisseur ont été réalisées et montées sur lames porte-objets. Ces coupes ont été ensuite colorées avec une solution d'hématoxiline-éosine Y (Martoja et Martoja-Pearson, 1967) (*Tableau II - 2*). Les préparations ont été observées sous un microscope muni d'une caméra vidéo (voir analyse d'images).

Tableau II – 2. Protocole pour l'histologie : coloration

Etapes de coloration (Hématoxyline et éosine)	
Xylène	5 minutes
Xylène	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 95°	5 minutes
Ethanol 70°	5 minutes
Eau distillée	5 minutes
Hématoxyline de Groat	3 – 5 minutes
Bain eau courante	3 minutes
Bain eau acétifiée (1%)	2 minutes
Eosine	4 minutes
Ethanol 95°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Xylène	5 minutes
Xylène	5 minutes
Montage des lamelles avec baume d'inclusion	

Classification des stades de reproduction

L'évolution du développement de la gonade des huîtres pendant les conditionnements a été décrite selon des classes de diamètres ovocytaires établies dans notre étude (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Cette classification propose quatre stades de maturation gonadique en fonction du diamètre des ovocytes et des caractéristiques histologiques de la gonade: Début de la gamétogenèse, vitellogenèse, maturité et dégénérescence (voir chapitre III).

Dans le cas des mâles, nous avons distingué quatre phases de maturation en se basant sur les caractéristiques cytologiques de la gonade. Nous n'avons utilisé que les caractéristiques qualitatives pour différencier ces phases puisque aucune classification du développement sexuel reposant sur le suivi évolutif d'un paramètre biométrique n'a été proposé jusqu'à présent. Phases de maturation chez les mâles : Début de la gamétogenèse, croissance, maturité et dégénérescence (voir chapitre III).

Analyse d'images

Les préparations histologiques ont été observées sous un microscope Leica avec deux grossissements selon la taille des cellules (40X et 100X). Le microscope était muni d'une caméra vidéo et les images ont été enregistrées et traitées par l'analyseur Silicon Graphics Station (Logiciel Visilog 5.1) pour la détermination de la taille des ovocytes, leur fréquence et l'activité gamétogénétique.

Le périmètre de chaque ovocyte a été dessiné et mesuré sur l'écran de l'ordinateur (*Fig. II - 5*) pour calculer une aire en "pixels" (s). Cette mesure a été ensuite transformée en un diamètre théorique (D) en microns sur la base d'un calibrage antérieur ($D_{théorique} = \sqrt{4 S / \pi}$). Cette opération a été faite sur 100 ovocytes sélectionnés aléatoirement par huître et les mesures ont été effectuées selon une procédure standardisée de manière à éviter les biais lors de la sélection des champs d'analyses. Des transects ont été tracés verticalement ou horizontalement sur les préparations histologiques de manière à suivre les aires qui contenaient le plus d'ovocytes et maximiser la couverture des champs (*Fig. II - 5*). Tous les ovocytes contenus à l'intérieur d'un champ et qui présentaient un noyau bien défini ont été mesurés. Chaque ovocyte ainsi mesuré a été assigné à un stade de maturation gonadique en fonction de son diamètre et des caractéristiques histologiques de la gonade.

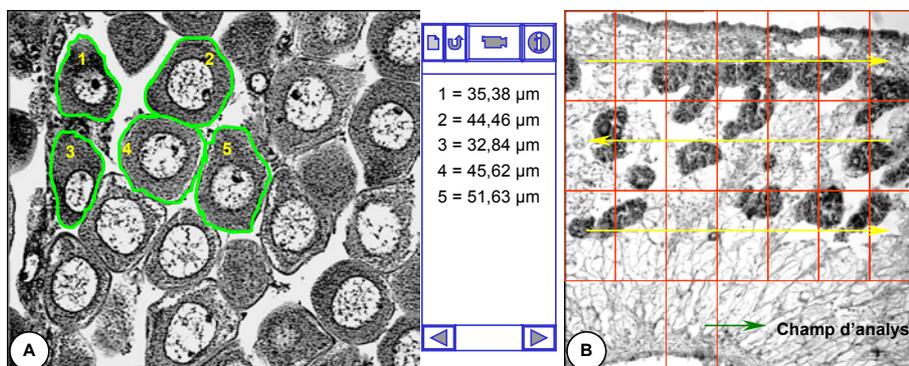


Fig. II – 5. A – mensuration des ovocytes sur l'écran de l'ordinateur. B – Procédure standardisée lors de la mensuration des ovocytes. Les chiffres 1 à 5 indiquent la taille (µm) des ovocytes.

Analyses biochimiques

Tous les échantillons destinés à la détermination de protéines, glucides et lipides totaux ont été d'abord broyés en additionnant 1 ml d'eau distillée par gramme de tissu, et ensuite une partie du contenu a été versée dans des tubes préalablement marqués; 1 ml pour les protéines, 1 ml pour les glucides, 1 ml pour les lipides et de 1 à 5 ml comme réserve. Les tubes ont été stockés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à leur analyse. Avec l'autre partie du broyat, 2 ml ont été versés dans des nacelles en aluminium préalablement tarées et pesées qui, après remplissage, ont été mises dans un four à $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 48 heures. Les nacelles ont été pesées pour la détermination du poids sec (qui a servi comme base pour le calcul de pourcentage de protéines, glucides et lipides).

Protéines

Dosage manuel de protéines totales par le méthode de Lowry *et al.* (1951).

- Préparation de la gamme étalon de la fraction d'albumine V (AFV).
- Réalisation d'une solution mère (SM) de AFV à 1 mg/ml de NaOH 0.1 N.
- Préparation de :

0 μl SM	+	1000 μl NaOH 0.1 N	= 0.00 mg/ml
50 μl SM	+	950 μl NaOH 0.1 N	= 0.05 mg/ml
100 μl SM	+	900 μl NaOH 0.1 N	= 0.10 mg/ml
200 μl SM	+	800 μl NaOH 0.1 N	= 0.20 mg/ml
300 μl SM	+	700 μl NaOH 0.1 N	= 0.30 mg/ml
400 μl SM	+	600 μl NaOH 0.1 N	= 0.40 mg/ml
500 μl SM	+	500 μl NaOH 0.1 N	= 0.50 mg/ml
600 μl SM	+	400 μl NaOH 0.1 N	= 0.60 mg/ml
800 μl SM	+	200 μl NaOH 0.1 N	= 0.80 mg/ml
1000 μl SM	+	0 μl NaOH 0.1 N	= 1.00 mg/ml

- Il faut ensuite :
- Ajouter 2 ml de NaOH 2N au tube contenant l'échantillon (1 ml), agiter et laisser à température ambiante au moins 1 heure.
- Prendre 100 μl de la première dilution dans un tube et ajouter 900 μl d'eau distillée et agiter.
- Dans un autre tube, prendre 250 μl de la deuxième dilution et jouter 750 μl de NaOH 0.1 N et agiter.
- Prendre 500 μl de la dernière dilution et de la gamme dans de cuves pour spectrophotomètre et ajouter 1 ml de réactif de Lowry, attendre 10 minutes

- Ajouter 1 ml de réactif de Folin et attendre 1 heure 30 minutes
- Faire la lecture sur le spectrophotomètre à 750 nm.

Glucides

Dosage manuel de glucides totales par le méthode de Dubois *et al.* (1956)

- Préparation de la gamme étalon de glucose (G)
- Réalisation de la solution mère (SM) de G à 0.4 mg/ml d'eau distillée (ED)
- Préparation de :

0 µl SM	+	2000 µl ED	= 0.00 mg/ml
50 µl SM	+	1950 µl ED	= 0.01 mg/ml
100 µl SM	+	1900 µl ED	= 0.02 mg/ml
200 µl SM	+	1800 µl ED	= 0.04 mg/ml
400 µl SM	+	1600 µl ED	= 0.08 mg/ml
600 µl SM	+	1400 µl ED	= 0.12 mg/ml
800 µl SM	+	1200 µl ED	= 0.16 mg/ml
1000 µl SM	+	1000 µl ED	= 0.20 mg/ml
1500 µl SM	+	500 µl ED	= 0.30 mg/ml
2000 µl SM	+	0 µl ED	= 0.40 mg/ml

- Il faut ensuite :
- Prendre 50 µl de chaque échantillon et ajouter 1950 µl ED (tubes en plastique).
- Prendre 500 µl de la dilution et de la gamme dans des tubes en verre.
- Ajouter 1 ml de phénol à 5 % et attendre 20 minutes.
- Ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré et refroidir immédiatement dans la glace.
- Faire la lecture en le spectrophotomètre à 490 et 600 nm; $DO = DO_{490} - 1.5 \cdot (DO_{600} - 0.003)$.

Lipides

Nous avons utilisé la technique gravimétrique après extraction selon la méthode de Bligh et Dyer (1959)

- Extraction 1: Prendre 400 µl de chaque échantillon dans des tubes en verre.
Ajouter 1 ml d'éthanol (pour analyse).
Ajouter 500 µl de dichlorométhane.
Laisser 10 minutes dans la glace.
Centrifuger à 3000 rpm à 2 °C pendant 10 minutes.
Transvaser tout le surnageant dans des tubes coniques.
- Extraction 2: Ajouter au culot 200 µl d'eau distillée glacée.
Ajouter 500 µl d'éthanol.
Ajouter 250 µl de dichlorométhane.
Laisser 10 minutes dans la glace.
Centrifuger à 3000 rpm à 2 °C pendant 10 minutes.

Transvaser tout le surnageant dans les tubes coniques précédemment utilisés.

- Extraction 3: Faire la même opération que lors de l'extraction 2.
- Dans les tubes coniques nous avons les 3 phases des 3 extractions successives et nous devons :
- Ajouter à ce mélange 1 ml d'eau distillée glacée.
- Ajouter 1 ml de dichlorométhane.
- Centrifuger à 3000 rpm à 2 °C pendant 10 minutes.
- La phase inférieure du tube contient le dichlorométhane et les lipides que nous récupérons dans des tubes en verre avec une pipette de 2 ml. Puis il faut :
- Ajouter 2 ml de dichlorométhane au résidu du tube conique (phase supérieure).
- Centrifuger à 3000 rpm à 2 °C pendant 10 minutes.
- Récupérer la phase inférieure et l'ajouter dans le tube de verre précédemment utilisé.
- Mettre les tubes en verre avec les lipides et le dichlorométhane dans un évaporateur.
- Evaporer le dichlorométhane sous azote à 30 °C.
- Une fois l'évaporation terminée, transvaser les lipides des tubes en verre avec du dichlorométhane dans des nacelles en téflon préalablement tarées en utilisant des pipettes Pasteur.
- Mettre les nacelles avec les lipides dans une étuve à 40 °C jusqu'à l'évaporation totale du dichlorométhane.
- Peser les nacelles.

Obtention des gamètes

Pour l'obtention des gamètes, soit à la fin de chaque expérience de conditionnement, soit pour les huîtres non conditionnées, un prélèvement direct par scarification de la gonade a été effectué sur 15 huîtres de chaque lot (Allen et Bushek, 1992). Les huîtres ont été ouvertes et leur sexe a été déterminé par l'observation d'un frottis au microscope. La scarification de la gonade a été effectuée par incision légère du tégument et la totalité des gamètes a été récupérée par rinçage de la gonade avec de l'eau de mer filtrée. Les ovocytes ont été tamisés à 80 µm pour éliminer tous les restes de tissu, ensuite retenus et lavés à l'eau de mer filtrée sur un tamis de 20 µm. Les gamètes ont été placés dans des béciers avec un volume connu (de 2 à 5 litres), trois échantillons de 50 µl de chaque bécier ont été prélevés afin de réaliser le comptage au moyen d'un projecteur de profil. Immédiatement

après toutes les expériences de scarification nous avons fait un pool de 5 femelles par lot. Les spermatozoïdes de 2 ou 3 mâles sont récupérés par scarification de la gonade et après contrôle de la mobilité, le sperme est ajouté au pool d'ovocytes selon la méthode décrite par Gruffydd et Beaumont (1970). La fécondation des ovocytes a été vérifiée au microscope en observant la formation du premier globule polaire.

Taux d'éclosion et élevage larvaire

Un nombre équivalent d'embryons de chaque huître femelle a été mis en élevage dans un seul bac cylindro-conique de 150 litres rempli d'eau de mer filtrée à 1 µm (*Fig. II - 6*). La densité des embryons était de 33 / ml et la température de l'eau maintenue à 20 °C. Après 48 heures, les bacs ont été vidangés et les larves « D » récupérées sur un tamis de 40 µm. Trois échantillons ont été prélevés afin de réaliser un comptage larvaire et de déterminer le taux d'éclosion :

$$TE = \frac{NLD}{NIE} \times 100$$

Où *TE* est le taux d'éclosion, *NLD* est le nombre de larves « D » après 48 heures d'élevage et *NIE* est le nombre initial d'embryons.

Pour l'élevage larvaire nous avons suivi la procédure standard utilisée dans les écloséries expérimentales. Nous avons mis un nombre équivalent de larves « D » (33 / ml) dans les bacs d'élevage après l'estimation du taux d'éclosion. La température de l'eau a été maintenue à 20 °C tout au long de l'élevage, et les larves ont été alimentées avec un mélange d'algues phytoplanctoniques constitué de trois espèces ; *Chaetoceros pumilum* (40 %), *Isochrysis aff. galbana* (Clone T-iso; Tahiti *Isochrysis*) (40 %) et *Pavlova lutheri* (20 %). La quantité apportée est d'environ 80000 cel / ml au début de l'élevage et 150000

cel / ml à la fin. L'eau des bacs a été renouvelée tous les deux jours, et les larves ont été récupérées sur tamis de différentes tailles. La taille des larves a été mesurée à partir de un ou deux millilitres d'eau contenant des larves de chaque bac. Les prélèvements ont été réalisés aux deuxième, neuvième et seizième jours d'élevage. Les échantillons ont été placés dans des récipients en plastique et fixés au formol (5 %). Deux ou trois photographies ont été prises pour chaque échantillon en utilisant le logiciel « ScionImage pour Windows » traitées par le même logiciel (« scioncorp.com ») pour l'évaluation de la taille des larves (la longueur d'une larve étant équivalente à l'axe le plus grand d'une ellipse ajustée à la forme de la larve).



Fig. II - 6. Bacs cylindro-coniques pour l'élevage larvaire.

Analyse statistique

Les proportions relatives à chaque stade de développement gamétique ont été calculées et transformées en « arc - sinus racine de x » afin de normaliser les valeurs pour chacune des huîtres (Snedecor et Cochran, 1972). Les données correspondant à la production

d'ovocytes ont subi une transformation logarithmique. Les données transformées des proportions et du nombre d'ovocytes produits ont été comparées à l'aide du test de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$) au moyen du logiciel STATGRAPHICS - Plus®. Les analyses de variance à un ou plusieurs facteurs ont permis de tester l'effet d'une ou plusieurs variables sur la production d'ovocytes, la taille des larves, les proportions des ovocytes, etc. Dans chaque chapitre nous donnerons des précisions en ce qui concerne les tests ou analyses utilisées pour une expérience donnée.

III - Classification des différents stades de maturation gonadique chez *Crassostrea gigas*

Introduction

Il existe différentes manières d'étudier l'évolution de la croissance des gamètes chez les bivalves. Les méthodes peuvent être classées en quatre catégories : (i) les observations directes relatives à la taille, couleur et forme des gonades (Mason, 1958) ; (ii) les indices gonadiques, le poids relatif de la gonade en relation avec le poids total de l'individu (poids sec ou humide) (Hughes-Games, 1977 ; Grant et Tyler, 1983a ; Bodoy *et al*, 1986) ; (iii) la taille moyenne des ovocytes (Kennedy et Battle, 1964 ; Muranaka et Lannan, 1984) ; et (iv) les stades de développement de la gonade basés sur des caractéristiques cytologiques (histologie) (Quayle, 1969 ; Yakovlev, 1977 ; Steele, 1998). Plusieurs études ont corrélé les stades de développement de la gonade à certaines caractéristiques cytologiques reconnues chez tous les mollusques bivalves. Malheureusement, la détermination de ces stades est souvent subjective, et il n'existe aucun accord sur les critères à retenir pour établir une échelle de maturation concernant la reproduction des bivalves (Barber et Blake, 1991).

En général, toutes les classifications qui décrivent des stades reproductifs chez les bivalves sont basées sur des critères qualitatifs. Barber et Blake (1991) précisent que l'approche la plus complète est d'appliquer au moins deux méthodes, une qualitative et une autre quantitative. Ces mêmes auteurs indiquent que l'histologie est toujours nécessaire pour l'identification d'évènements liés au développement des gamètes. Par exemple, le suivi des variations saisonnières des différents stades de la gamétogenèse à l'aide d'une étude histologique permet d'identifier les phénomènes qui affectent les activités reproductives des bivalves (Paulet, 1990). Cependant, il n'existe actuellement aucune classification ou échelle reproductive qui combine des approches quantitatives et qualitatives.

L'objectif de cette partie de nos recherches était de proposer une classification des événements reproductifs chez *C. gigas* en utilisant des critères qualitatifs (histologie) et quantitatifs (diamètre des ovocytes). Pour cela, nous avons étudié l'évolution de la gamétogenèse chez six lots de *C. gigas* élevés en différentes régions de la côte atlantique française en nous basant sur la taille des ovocytes et la description histologique de la gonade. Nos résultats ont été comparés à ceux trouvés par Lango-Reynoso (1999) qui a étudié trois populations d'huîtres en France et qui a utilisé les mêmes critères pour décrire la gamétogenèse de ces animaux. L'ensemble des résultats a permis de proposer une classification qualitative – quantitative pour évaluer le développement gamétogénétique de *C. gigas* (Lango-Reynoso *et al.*, 2000).

Conditions expérimentales

Six lots de 30 huîtres chacun ont été prélevées des sites d'élevage : Baie des Veys (BV), Aber Benoît (AB), Baden (Ba), Bouin (B), La Tremblade (T) et Arcachon (A). (cf *Fig. II - 1*). Les animaux ont été transportés en même temps au Centre IFREMER de Brest. Quatre prélèvements ont été effectués: en décembre 1998, février, avril et juin 1999.

Paramètres étudiés

Cytologie. De 10 à 15 individus de chaque site, pour chaque période d'échantillonnage, ont été prélevés pour les analyses histologiques et les analyses d'images.

Traitement statistique. Pour chaque individu, nous avons fait un histogramme de fréquences de la taille des ovocytes qui a été analysé en utilisant un programme d'ajustement des distributions (Macdonald et Green, 1988). Cela a permis de déterminer les différents pourcentages des diamètres ovocytaires chez un animal donné (analyse modale).

La moyenne des diamètres ovocytaires et l'écart-type ont été calculés pour chacune des huîtres, ensuite la moyenne de l'échantillon par période et son écart-type ont été estimés (Grant et Tayler, 1983b). Finalement, les moyennes des diamètres ovocytaires de chaque population (BV, AB, Ba, B, T, A) ont été comparées avec celles trouvées pour les populations de la rade de Brest : l'Anse du Roz, la Pointe du Château et celle de Marennes-Oléron (Lango-Reynoso, 1999) pour les périodes et stades histologiques correspondants.

Résultats

Les analyses des diamètres ovocytaires des huîtres provenant de la baie des Veys, de l'Aber Benoît, de Baden, de Bouin, de La Tremblade et d'Arcachon montrent que les six populations présentent la même distribution ovocytaire. Les changements temporaires dans la distribution de fréquences des diamètres des ovocytes ont révélé quatre distributions distinctes au cours du développement de la gonade chez cette espèce. Dans la *Figure III - 1* est présenté un exemple de chaque distribution caractéristique associée aux résultats des analyses modales.

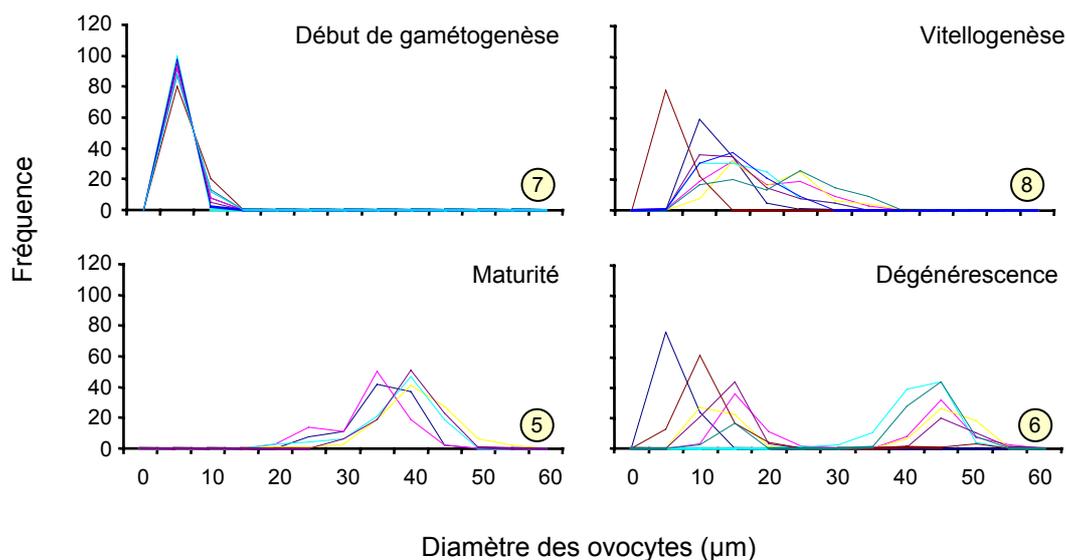


Fig. III - 1. Changements temporaires individuels des distributions taille - fréquence des diamètres ovocytaires chez *Crassostrea gigas*, qui caractérisent les quatre stades gonadiques décrits dans cette étude. Le chiffres (●) représentent le nombre total d'individus mesurés

Les résultats de l'analyse modale (voir annexes) sont présentés dans le *Tableau III – 1*. Nous avons obtenu quatre classes modales avec des pourcentages respectifs; un seul groupe d'ovocytes a été identifié pour les trois premières classes avec comme moyenne pour la première « début de gamétogenèse » : $5.32 \pm 2.66 \mu\text{m}$, dans la seconde classe « vitellogenèse » : $16.43 \pm 4.22 \mu\text{m}$, pour la troisième « maturité » : $37.10 \pm 3.46 \mu\text{m}$. Pour la quatrième classe « dégénérescence », nous avons trouvé deux groupes d'ovocytes, le premier avec une moyenne de $11.26 \pm 1.75 \mu\text{m}$ (54.5 %) et le deuxième avec une moyenne de $43.68 \pm 2.12 \mu\text{m}$ (45.5 %).

Tableau III – 1. Analyse modale de la taille - fréquence des ovocytes (*Crassostrea gigas*) à partir des six populations étudiées.

Classe Modale (CM)	Pourcentage d'ovocytes dans CM	$X \pm E.T. (\mu\text{m})^*$	<i>n</i>
Début de gamétogenèse	100	5.32 ± 2.66	8700
Vitellogenèse	100	16.43 ± 4.22	3100
Maturité	100	37.10 ± 3.46	2100
Dégénérescence	54.5	11.26 ± 1.75	800
	45.5	43.68 ± 2.12	

* Moyenne (\pm écart - type) par classe modale

Les distributions de taille des ovocytes de chaque individu provenant des populations de la baie des Veys, de l'Aber Benoît, de Baden, de Bouin, de La Tremblade et d'Arcachon ont été assignées à chaque stade gonadique décrit antérieurement à propos des résultats des distributions taille - fréquence et l'analyse modale (*Tableau III - 2*). Ensuite, une analyse de variance a été réalisée pour comparer la moyenne des diamètres ovocytaires individuels de chacune des populations étudiées (BV, AB, Ba, B, T et A) avec la moyenne caractéristique à chaque stade gonadique estimée par Lango-Reynoso (1999). Les résultats n'ont pas montré de différences significatives ($P < 0.05$) entre les deux groupes de données à l'exception des huîtres de l'Aber Benoît dont les diamètres ovocytaires moyens sont significativement supérieurs à ceux des autres populations en décembre 1998 (*Fig. III – 2 ; Tableau III - 3*).

Tableau III - 2. Classification des stades gonadiques des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de différents sites de la côte atlantique française selon l'échelle reproductive basée sur les diamètres ovocytaires. Les chiffres correspondent au nombre des individus par stade reproductif.

Population – Période	Stades reproductifs			
	Début Gamétogenèse	Vitellogenèse	Maturité	Dégénérescence
Baie des Veys	Déc'98	7	1	
Aber Benoît	"	1	4	1
Baden	"	8	1	
Bouin	"	9		
La Tremblade	"	10		
Arcachon	"	8		
Baie des Veys	Fév'99	9		
Aber Benoît	"	6	1	
Baden	"	8		
Bouin	"	7		
La Tremblade	"	4		
Arcachon	"	7		
Baie des Veys	Avr'99		4	
Aber Benoît	"		5	
Baden	"	1	3	
Bouin	"	1	7	
La Tremblade	"		4	
Arcachon	"	1	6	
Baie des Veys	Juin'99			5
Aber Benoît	"			3
Baden	"			2
Bouin	"			5
La Tremblade	"		1	
Arcachon	"			6

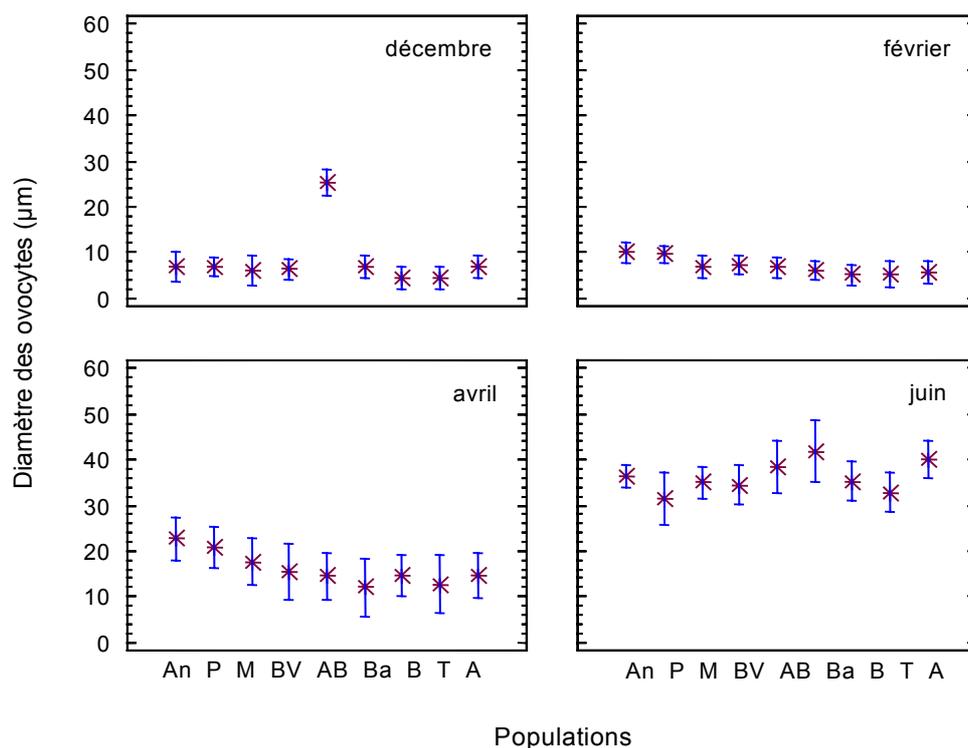


Fig. III - 2. Résultats de l'analyse de variance ($P < 0.05$) concernant la comparaison des moyennes de la taille des ovocytes trouvées par Lango-Reynoso (1999) pour ; An – Anse du Roz, P – Pointe du Château et M – Marennes-Oléron, et celles de cette étude ; BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A – Arcachon.

Tableau III - 3. Résultats de l'analyse de variance ($P < 0.05$) concernant la comparaison des moyennes de la taille des ovocytes trouvées par Lango-Reynoso (1999) et celles de cette étude.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Décembre 1998					
Entre groupes	2396,4	8	479,28	12,96	0,0000
Dedans les groupes	1775,3	48	36,98		
Total	4171,4	56			
Février 1999					
Entre groupes	25,3	8	5,07	1,5	0,2158
Dedans les groupes	118,6	35	3,39		
Total	144	56			
Avril 1999					
Entre groupes	34,94	8	6,98	0,28	0,9224
Dedans les groupes	684,44	27	25,34		
Total	719,38	35			
Juin 1999					
Entre groupes	243,7	8	48,75	2,03	0,1172
Dedans les groupes	479,3	20	23,96		
Total	723,1	28			

Une fois les caractéristiques liées aux changements temporaires et à l'analyse modale déterminées pour chacun des groupes, et considérant qu'il n'y a pas de différences significatives entre les valeurs présentées dans cette étude et celles trouvées par Lango-Reynoso (1999) pour les périodes correspondantes, nous avons proposé une classification des stades de maturation gonadique pour *C. gigas* (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). L'intervalle de taille et les caractéristiques histologiques (*Fig. III – 3*) correspondant à chaque stade de développement gamétique sont présentés à continuation :

- **Stade 1: Début de la gamétogenèse.** Le diamètre ovocytaire se situe entre 3.5 et 12 μm . Les acini sont peu développés en nombre et en volume dans le tissu conjonctif. Les parois des tubules sont tapissées de cellules primaires qui possèdent un noyau de grand taille et présentent un cytoplasme peu abondant ;
- **Stade 2: Vitellogenèse.** Le diamètre des ovocytes est entre 12 et 30 μm . Les cellules restent adhérentes à la paroi des acini mais elles entrent en croissance, c'est la phase de vitellogenèse. Du fait de l'augmentation de la taille des acini, le tissu conjonctif a quasiment disparu ;
- **Stade 3: Maturité.** Les ovocytes ont un diamètre de 30 à 41 μm . Les acini sont complètement remplis d'ovocytes matures (avec une taille relativement homogène), qui présentent un noyau distinctif et parfois le nucléole est visible ;
- **Stade 4: Dégénérescence.** La plupart des ovocytes ont un diamètre supérieur à 41 μm . Ils sont en état de dégénérescence, parfois allongés, parfois déchirés. Le développement de petits ovocytes est évident sur les parois des acini.

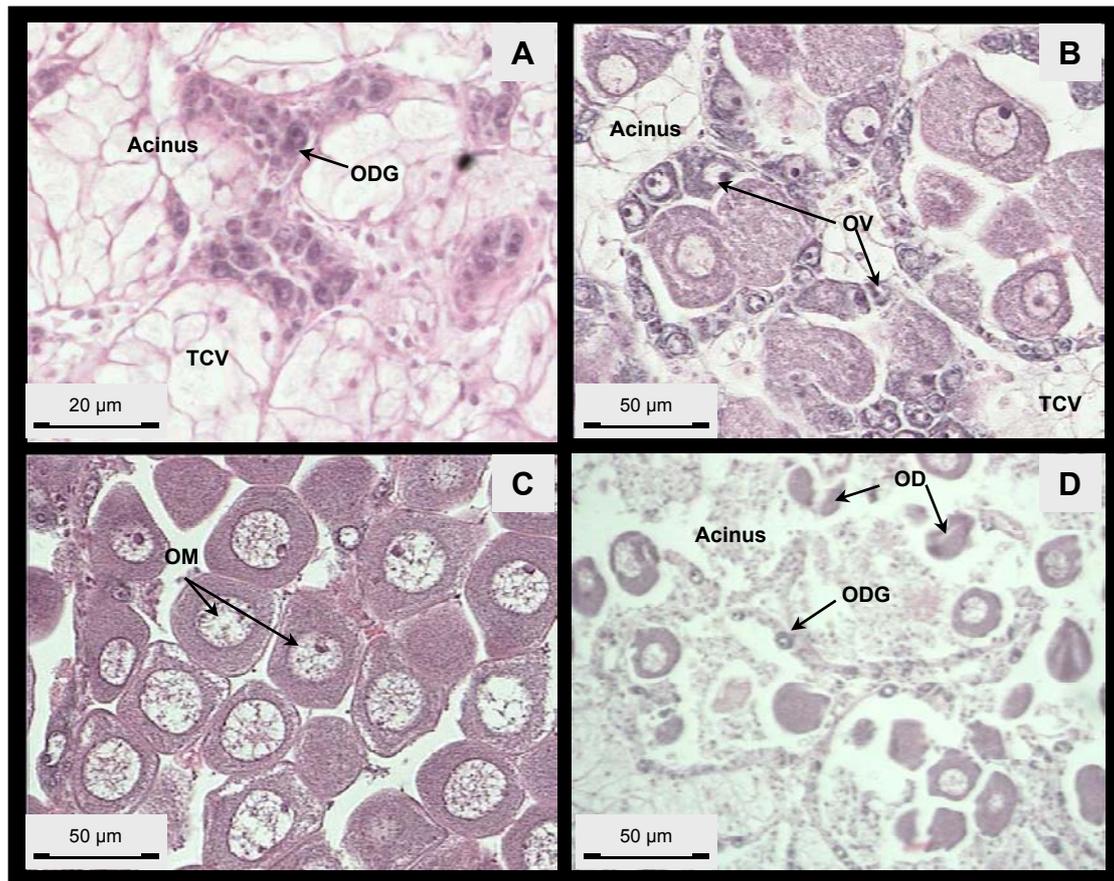


Fig. III – 3. Stades de maturation gonadique de *Crassostrea gigas* en fonction du diamètre des ovocytes. A – « Début de gamétogenèse », B – « Vitellogenèse », C – « Maturité » et D – « Dégénérescence ». ODG – ovocyte en début de gamétogenèse, OV – ovocyte en vitellogenèse, OM – ovocyte mature, OD – ovocyte en dégénérescence, TCV – tissu conjonctif vésiculeux.

Dans le cas de mâles, nous avons distingué quatre phases de maturation en nous basant uniquement sur les caractéristiques cytologiques de la gonade (*Fig. III – 4*). Les caractéristiques de chaque stade sont présentées à continuation :

- **Stade 1: Début de la gamétogenèse.** La lignée germinale est réduite à quelques travées cellulaires comprenant des spermatogonies et quelques spermatocytes, baignant dans un tissu conjonctif vésiculeux particulièrement abondant ;

- **Stade 2: Croissance.** Les acini gagnent en volume et les séquences normales de la spermatogenèse y sont observées avec des spermatocytes I et II, des spermatides et quelques spermatozoïdes. Ces derniers s'organisent radialement dans la lumière de l'acinus, l'acrosome semblant rattaché aux spermatides et le flagelle étant orienté vers le centre de la lumière ;
- **Stade 2: Maturité.** Le tissu conjonctif vésiculeux est considérablement réduit. Les spermatozoïdes abondent et forment des paquets dans la lumière des follicules ;
- **Stade 4 : Dégénérescence.** Quelques spermatozoïdes sont observés dans la lumière des acini, ainsi que de jeunes cellules le long des parois des acini.

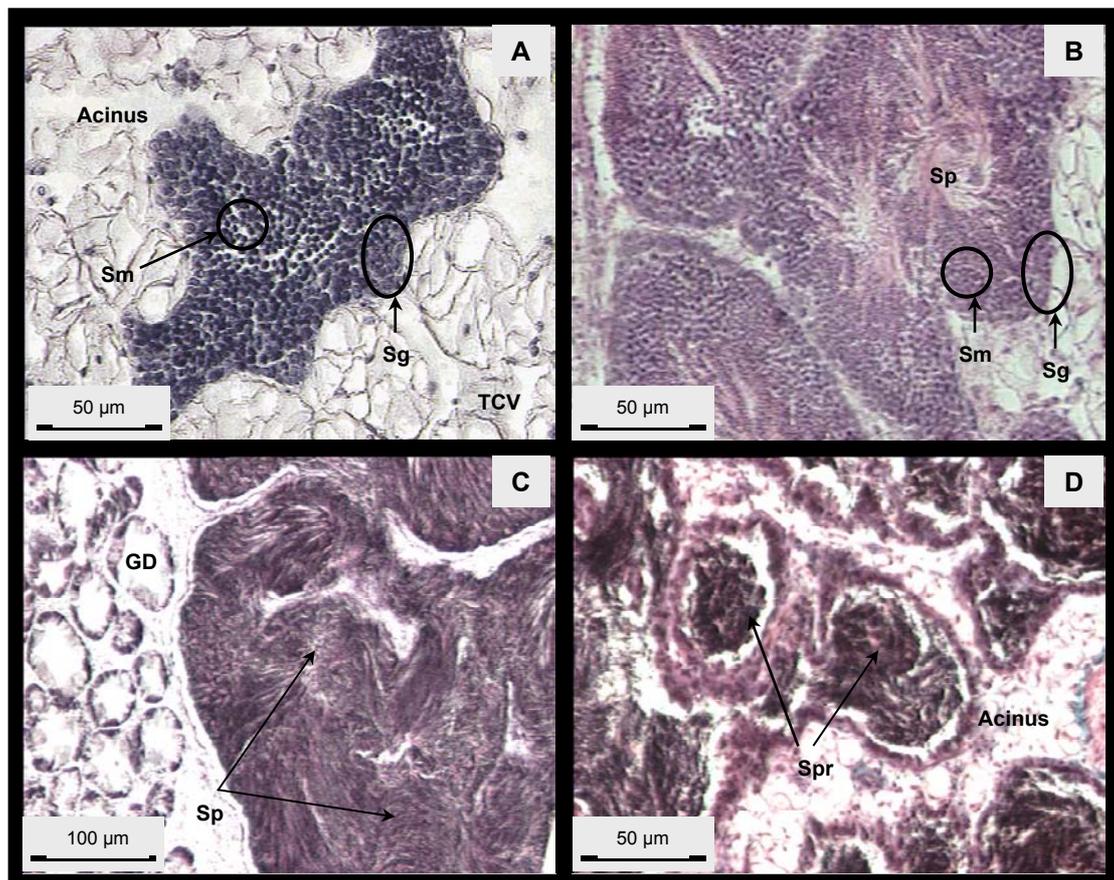


Fig. III – 4. Stades de maturation gonadique des huîtres mâles *Crassostrea gigas*. A – Début de gamétogenèse, B – Croissance, C – Maturité et D – Dégénérescence. Sg – spermatogonies, Sm – spermatocytes, Sp – spermatozoïdes, Spr – spermatozoïdes résiduels, TCV – tissu conjonctif vésiculeux, GD – glande digestive.

Discussion

L'analyse des stades de développement de la gonade chez les bivalves nécessite de prendre en compte des données qualitatives et quantitatives. L'histologie est toujours nécessaire pour la description des événements relatifs au développement des gamètes. Les estimations quantitatives sont importantes parce qu'elles éliminent la subjectivité et les problèmes associés à la description (Barber et Blake, 1991). Plusieurs chercheurs ont utilisé la caractérisation des stades par observation histologique (qualitative) comme information additionnelle aux mesures quantitatives. Sastry (1979) a corrélié la taille moyenne des ovocytes avec les stades de développement gonadique chez *Argopecten irradians*. Ruiz-Durá (1974), Morales-Alamo et Mann (1989) et Frias-Espericueta *et al.* (1997) ont établi une échelle reproductive pour *Ostrea corteziensis*, *C. virginica* et *C. iridescens*. Cette échelle est basée sur le diamètre des ovocytes pendant la période de maturation et de ponte. Une classification similaire a été proposée par Lubet et Allarakh (1994) pour *Saccostrea cucullata*, mais cette échelle était basée sur l'âge des ovocytes et considérait que les jeunes ovocytes avaient un diamètre inférieur à 50 μm , et que les ovocytes matures étaient plus grands (> 50 μm). Les observations histologiques de la gonade incluant des mesures quantitatives doivent être prises en compte dans n'importe quelle étude sur la reproduction des mollusques bivalves parce qu'elles procurent une information détaillée non disponible d'une autre manière (Dinamani, 1987; Morales-Alamo et Mann, 1989). Nous avons trouvé dans notre étude des caractéristiques histologiques qualitatives de la gonade femelle similaires à celles rapportées dans des travaux antérieurs sur la même espèce, dont en particulier les descriptions faites par Quayle (1969) en Colombie Britannique (Canada), Yakovlev (1977) en mer du Japon, et Steele (1998) en Irlande. Pourtant, une description détaillée des caractéristiques histologiques n'a pas été nécessaire pour cette étude.

L'analyse des diamètres ovocytaires et l'observation histologique de la gonade chez *C. gigas* en France pour les populations de l'Anse du Roz, de la Pointe du Château et de Marennes Oléron faites par Lango-Reynoso (1999) ont mis en évidence un cycle reproductif saisonnier clairement défini. Le cycle décrit dans notre étude présente la même évolution pendant la période décembre – juin (voir chapitre V). En conséquence, le cycle reproductif de *C. gigas* peut être divisé en quatre étapes bien définies en fonction des changements temporaires du diamètre ovocytaire: début de la gamétogenèse, vitellogenèse, maturité, dégénérescence.

Les tests utilisés pour évaluer l'échelle reproductrice pour les différentes populations étudiées (baie des Veys, Aber Benoît, Baden, Bouin, La Tremblade et Arcachon) montrent qu'une classification dans un des quatre stades reproductifs proposés dans notre étude est possible à partir des distributions de la moyenne et de la fréquence de taille. Ces résultats ont été confirmés par l'analyse modale qui a permis la détermination des pourcentages des modes. Pendant les périodes d'étude rapportées, décembre 1998, février, avril, et juin 1999, la distribution en taille des ovocytes de chaque individu a présenté une tendance modale qui a pu être assigné au stade reproductif correspondant. Nous avons observé que certaines populations présentaient différentes tendances en même temps. Cela n'a pas permis une classification par groupe, et requiert une analyse individuelle. Par exemple, les distributions ovocytaires des huîtres provenant de l'Aber Benoît en décembre correspondent aux quatre stades reproductifs, et présentant des différences significatives par rapport aux autres populations. Ces résultats sont dûs au fait que ces huîtres contiennent des ovocytes résiduels à cette époque de l'année (Chávez-Villalba *et al.*, 2001a). Nous avons pu remarquer que la résorption des gamètes non émis chez ces animaux se déroule très lentement jusqu'au mois de janvier. En conséquence, la présence d'ovocytes résiduels au mois de décembre occasionne des variations importantes des distributions de tailles des ovocytes chez ces huîtres. Nous avons aussi observé des ovocytes résiduels chez les huîtres provenant de la Baie des Veys et de Baden, mais ces ovocytes représentaient un pourcentage réduit par rapport à ceux de l'Aber Benoît.

Conclusion

La classification proposée dans cette étude constitue une approche combinant des critères qualitatifs et quantitatifs non trouvés dans d'autres travaux similaires. Ces caractéristiques permettent une évaluation individuelle des étapes reproductives chez *C. gigas* et une comparaison avec des études équivalentes (Lango-Reynoso *et al*, 2000). Pendant le déroulement de nos recherches, nous avons pu constater que cette classification reproductrice permettait d'étudier en détail le développement des ovocytes. Grâce à la mesure des diamètres ovocytaires, nous avons pu déterminer avec précision les pourcentages d'ovocytes qui correspondent à chaque stade reproductif et, de cette manière, faire des analyses statistiques qui permettent de découvrir des différences (95 % de confiance) entre individus, groupes ou populations.

IV - Conditionnement automnal chez *Crassostrea gigas*: Effet de la température et de la photopériode

Introduction

Loosanoff et Davis (1951) ont découvert que, sous conditions artificielles, une augmentation graduelle de la température pendant l'hiver et le printemps permettait un développement normal de gamètes puis de larves de plusieurs espèces de bivalves, c'est à dire la possibilité de produire du naissain en dehors de la période de reproduction. Aujourd'hui, les techniques de conditionnement sont presque les mêmes que celles utilisées par les pionniers de cette discipline (Loosanoff et Davis, 1963 ; Walne, 1974). Ces techniques consistent à collecter des animaux dans la nature et à les placer dans des bacs remplis d'eau de mer enrichie avec du phytoplancton, et à élever graduellement la température pour accélérer ou retarder le développement de la gonade jusqu'au stade de maturité sexuelle (Lannan *et al.*, 1980).

En France, le conditionnement de géniteurs de *Crassostrea gigas* en laboratoire peut être accompli presque toute l'année à l'exception de l'automne (Robert et Gérard, 1999). Pendant l'hiver, l'activité reproductrice est basse, mais les huîtres peuvent être conditionnées à partir de décembre pour obtenir des gamètes et des larves viables à la fin - janvier. Cependant, durant l'automne il est très difficile d'obtenir une production significative de gamètes en laboratoire par les méthodes habituelles qui consistent à nourrir abondamment des géniteurs sous une température élevée (19 °C) (Barret *et al.*, 1999). Cochard et Devauchelle (1993) signalent par ailleurs que le conditionnement de *Pecten maximus* pendant l'automne est difficile car souvent les animaux ne sont pas réceptifs aux signaux du milieu. Cette période est à ce titre qualifiée de "réfractaire". Chez les Ostréidae ceci n'est pas particulier à l'huître

japonaise puisque, dans les écloséries, la période automnale est caractérisée par les difficultés de conditionnement de géniteurs quelque soient les espèces de cette famille. En fait, la littérature ne mentionne que rarement les résultats de cette période en raison de leur négativité. Pour la plupart des auteurs la saison utile commence en fin d'automne et les reproducteurs ne sont conditionnés qu'à partir de la mi-novembre, voire plus tard. Wilson (1981) précise que le conditionnement automnal n'est pas toujours efficace chez *O. edulis*. Dupuy *et al.* (1977) sont capables de faire pondre *C. virginica* toute l'année, et pour les pontes d'automne (de la mi-octobre à début décembre) ils recommandent de débiter le conditionnement dans la seconde semaine de juillet, à partir de géniteurs ayant pondu entre mi-juin et cette époque, et dont les larves ont présenté de bonnes performances. Il est important que ces huîtres aient totalement pondu, parce que la résorption des ovocytes non émis retarderait proportionnellement la reprise de la gamétogenèse. Ces animaux doivent être placés au froid (10 °C) pendant six semaines pour la résorption.

Quelques expériences de maturation en laboratoire ont montré que la reprise de l'activité reproductrice chez *C. gigas* a lieu vers la fin du mois de novembre ou début décembre. A cette période de l'année la température de l'eau de mer, sur le littoral français est relativement élevée (15 à 20 °C selon les régions) alors que la photopériode se trouve en phase décroissante. Ces caractéristiques semblent indiquer qu'en apparence la température n'exerce pas un rôle dominant sur la reprise de la gamétogenèse de cette espèce, si l'on considère que dans la nature des signes de reprise d'activité sont évidents dès janvier alors que les températures baissent encore. Ainsi le rôle d'autres paramètres comme la photopériode sur la reprise du développement gonadique semble être plus déterminant. Cependant, l'effet de ce paramètre sur la gamétogenèse des bivalves n'est pas toujours évident. Quelques études ont montré qu'une augmentation de la photopériode parallèlement à la température peut stimuler la reproduction de *Pecten maximus* (Devauchelle et Mingant, 1991 ; Saout *et al.*, 1999). Malgré cela il n'existe pas d'information disponible concernant l'effet de ce paramètre sur le développement des gamètes de *C. gigas*.

L'automne est une période de récupération ou de repos sexuel dans le cycle de gamétogenèse de *C. gigas* (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Thompson *et al.* (1996) ont trouvé chez l'huître *C. virginica* que le développement folliculaire et la gamétogenèse ne sont pas évidentes au niveau histologique durant l'automne. Mais ces auteurs suggèrent que les activités continuent au niveau cellulaire. Il est admis que les événements reproductifs chez les bivalves sont coordonnés par des facteurs exogènes (température, lumière, salinité, etc.), et des facteurs endogènes (composants endocrines). Ces facteurs agissent simultanément et peuvent avoir des actions synergiques. Bien que les variations du cycle sexuel d'espèces à vaste répartition géographique en latitude, dont *C. gigas*, ont été interprétées par l'action de la température de l'eau, d'autres facteurs comme la nutrition ou la photopériode interviennent (Lubet, 1976). En conséquence, il est intéressant de savoir s'il existe une relation entre la reprise de la gamétogenèse et les variations de ces paramètres, particulièrement la température et la photopériode. Avec cet objectif comme base, le présent travail a été entrepris pour étudier l'effet de variations accélérées de la température et de la photopériode afin de préparer des géniteurs de *Crasostrea gigas* pour des conditionnements pendant l'automne. Pour atteindre notre objectif nous avons réalisé deux expériences, une en 1998 et l'autre en 1999. Dans la première nous avons accéléré les variations de la température et de la photopériode deux fois plus que dans la nature afin de retrouver les conditions hivernales en octobre et de créer les conditions estivales en décembre. Pour la seconde, nous avons maintenu une température accélérée et nous avons testé deux conditions différentes de photopériode : « accélérée » et « naturelle ».

Conditions expérimentales 1998

Un lot de 300 huîtres âgées de trois ans (poids moyen 75 ± 10 g) et originaires du bassin de Marennes-Oléron (lot de La Tremblade) ont été transportées au Centre IFREMER de

Brest au début du mois de juillet. Avant de commencer le conditionnement, les huîtres ont été divisées en deux lots, le premier lot nommé «cycle naturel» a été placé en bacs de maintenance et a subi un cycle équivalent aux conditions moyennes de température et de photopériode observées à La Tremblade au cours des 15 dernières années (Fig. IV - 1). Le second lot ou «cycle accéléré» a été placé dans un second bac de maintenance et a été soumis à une variation deux fois plus rapide de ces deux facteurs afin de créer les conditions hivernales en octobre, et de retrouver les conditions estivales en décembre (Fig. IV - 1). Les deux lots ont été maintenues en condition standard de nourriture.

Au début des mois d'octobre, de novembre et de décembre, 40 individus de chaque cycle (« naturel » et « accéléré ») ont été mis en conditionnement pendant sept semaines en bacs de maturation. Durant la première semaine la température a été augmentée de 1 °C par jour jusqu'à arriver à 19 °C (situation standard), la photopériode a été régulée aux conditions estivales de 16 heures d'éclairement par jour, et les huîtres ont été nourries de manière standard.

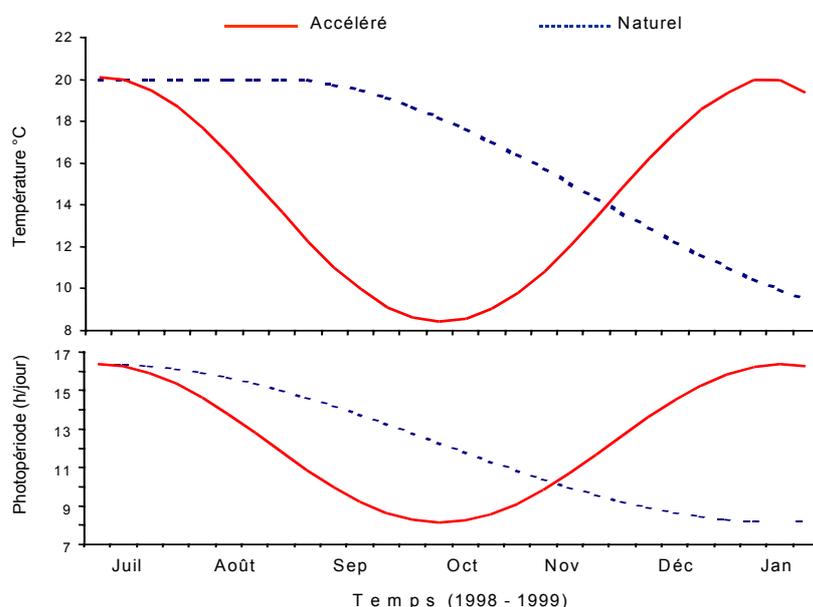


Fig. IV – 1. Variations de la température et de la photopériode pour les cycles « accéléré » et « naturel » dans le but de préparer les huîtres *Crassostrea gigas* au conditionnement standard.

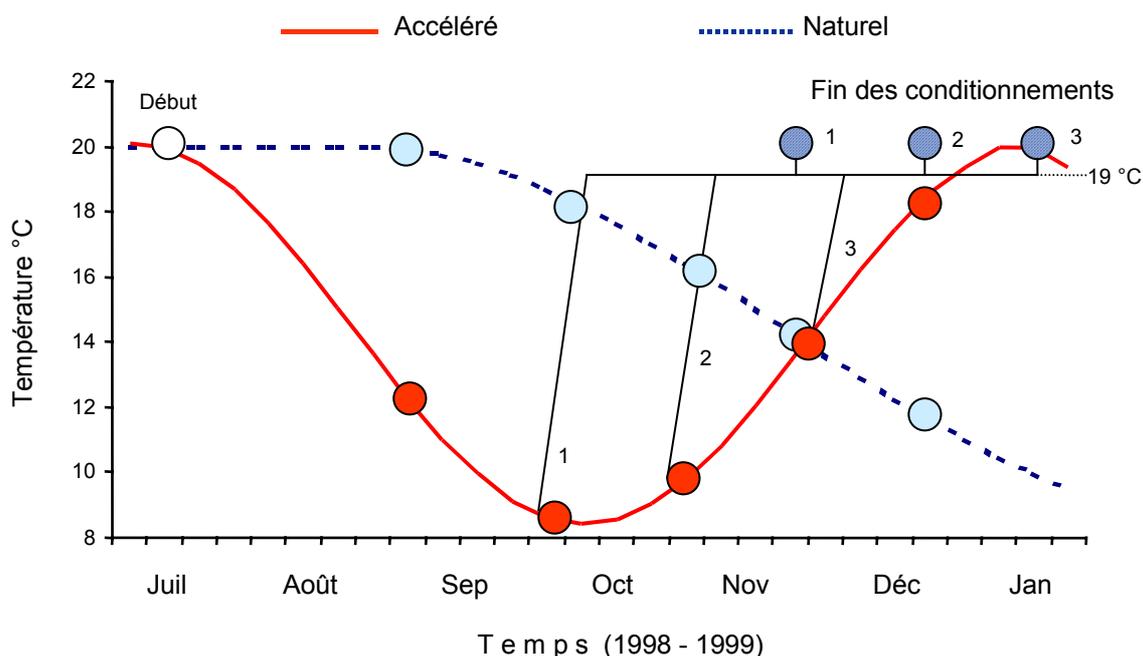


Fig. IV – 2. Plan d'échantillonnage. Chaque cercle représente l'instant où les échantillons ont été prélevés pour l'analyse histologique. Les lignes et numéros représentent chaque expérience de conditionnement et indiquent aussi la température à laquelle les huîtres ont été prises pour initier les conditionnements.

Paramètres étudiés

Echantillonnage. Le plan d'échantillonnage est présenté sur la *Figure IV – 2* : chaque cercle représente le temps et les conditions de température et de photopériode dans lesquelles l'échantillon a été pris. A chaque occasion, 20 huîtres ont été prélevées dans chacun des deux cycles étudiés. Nous avons également récupéré 20 huîtres à la fin de chaque conditionnement pour les études histologiques.

Cytologie. Dix animaux ont été ouverts afin de prélever un fragment de gonade en vue des analyses histologiques et de l'analyse d'images pour mesurer la taille des ovocytes.

Indices. L'indice de Walne et Mann a été déterminé en utilisant les 10 huîtres restantes de chaque échantillon.

Obtention de gamètes. A la fin des conditionnements l'obtention de gamètes a été réalisée par prélèvement direct dans la gonade (scarification) sur la totalité des huîtres restantes.

Taux d'éclosion. Après fertilisation, les embryons ont été mis en commun dans des bacs expérimentaux et les larves ont été récupérées après 48 heures afin de réaliser les comptages et déterminer le taux d'éclosion.

Résultats (1998)

Bacs de maintenance

Les diamètres ovocytaires individuels observés dans le cycle « naturel » et le cycle « accéléré » sont présentés sur la *Figure IV - 3*. Les huîtres maintenues dans le cycle « naturel » ont produit quelques ovocytes en stade de « vitellogenèse » en septembre, cependant les animaux n'ont présenté aucune activité gamétogénique pendant l'automne. La résorption des ovocytes résiduels a été constaté jusqu'en novembre, et les ovocytes en « vitellogenèse » ont été observés à partir de janvier, en correspondance avec le cycle naturel de reproduction de cette espèce.

A l'inverse, les animaux maintenus dans le cycle « accéléré » de température et de photopériode ont été capables de produire des ovocytes en « vitellogenèse » en octobre, et des ovocytes « matures » ont été observés en décembre. Il est important de signaler que les ovocytes en « vitellogenèse » ont été produits malgré la présence d'ovocytes résiduels. A la fin janvier, la proportion la plus importante correspond aux ovocytes « matures » pour les animaux de cette condition.

Bacs de maturation

Les diamètres ovocytaires individuels observés pour chaque expérience de conditionnement sont montrés par la *Figure IV - 4*. Des différences significatives ($P < 0.05$) sont constatées entre les ovocytes en « vitellogenèse » ou « matures » produits au début et ceux produits à la fin des trois conditionnements. Dans tous les cas, la proportion d'ovocytes « matures » est significativement plus élevée ($P < 0.05$) dans les huîtres provenant du cycle « accéléré ». Dans les animaux « accélérés » la proportion d'ovocytes « matures » à la fin des conditionnements augmente avec le temps ; 42 % en octobre, 56 % en novembre et 96 % en décembre. Les huîtres provenant du cycle « naturel » ne présentent aucune activité gamétogénétique pendant les conditionnements accomplis en octobre et novembre, mais durant la dernière expérience de conditionnement (décembre), elles ont été capables de produire des ovocytes en « vitellogenèse » pour certaines et « matures » pour d'autres (23 et 8 % respectivement).

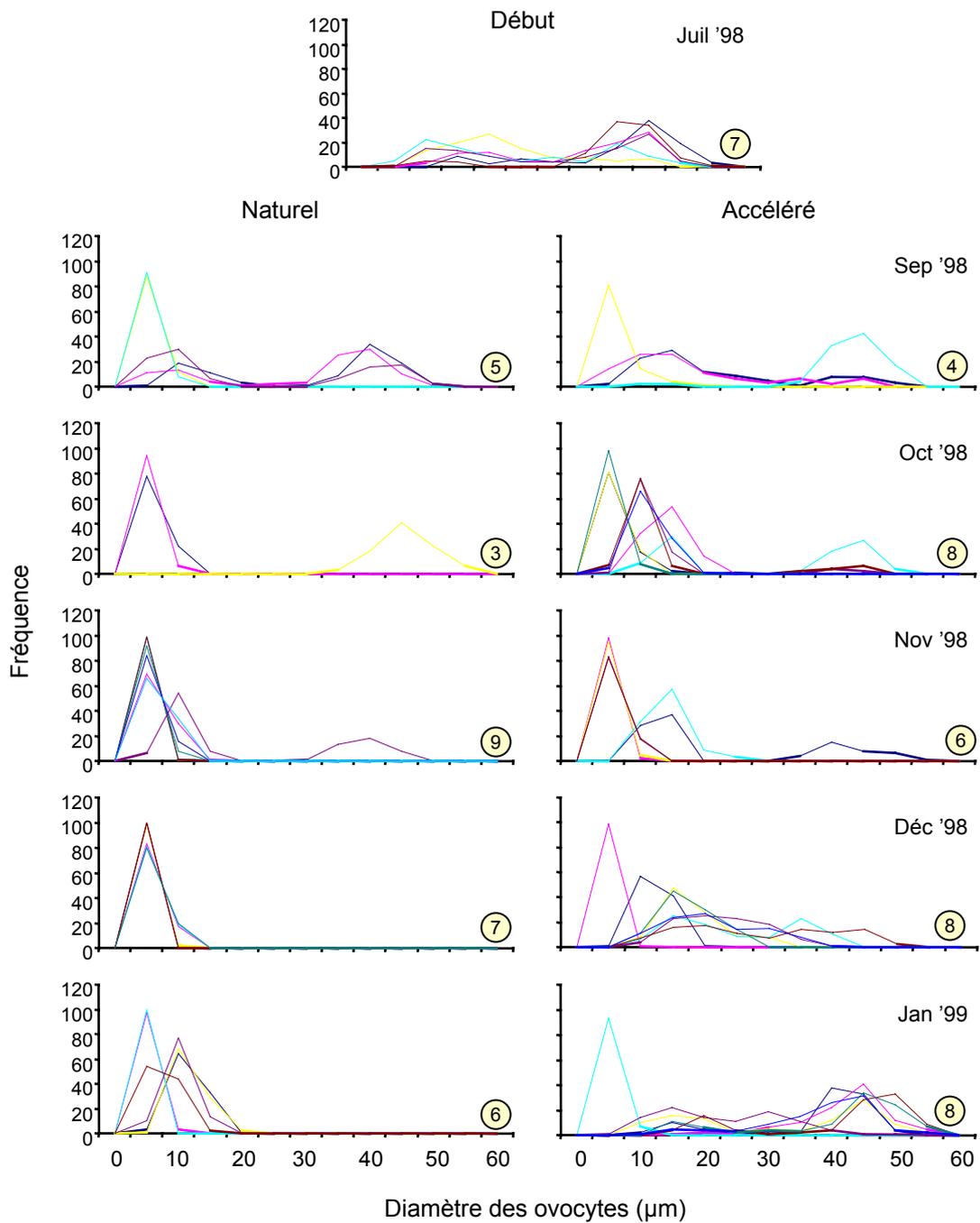


Fig. IV – 3. Variation temporelle du diamètre des ovocytes des huîtres maintenues dans les cycles « naturel » et « accéléré » (bacs de maintenance). Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre total d'individus mesurés.

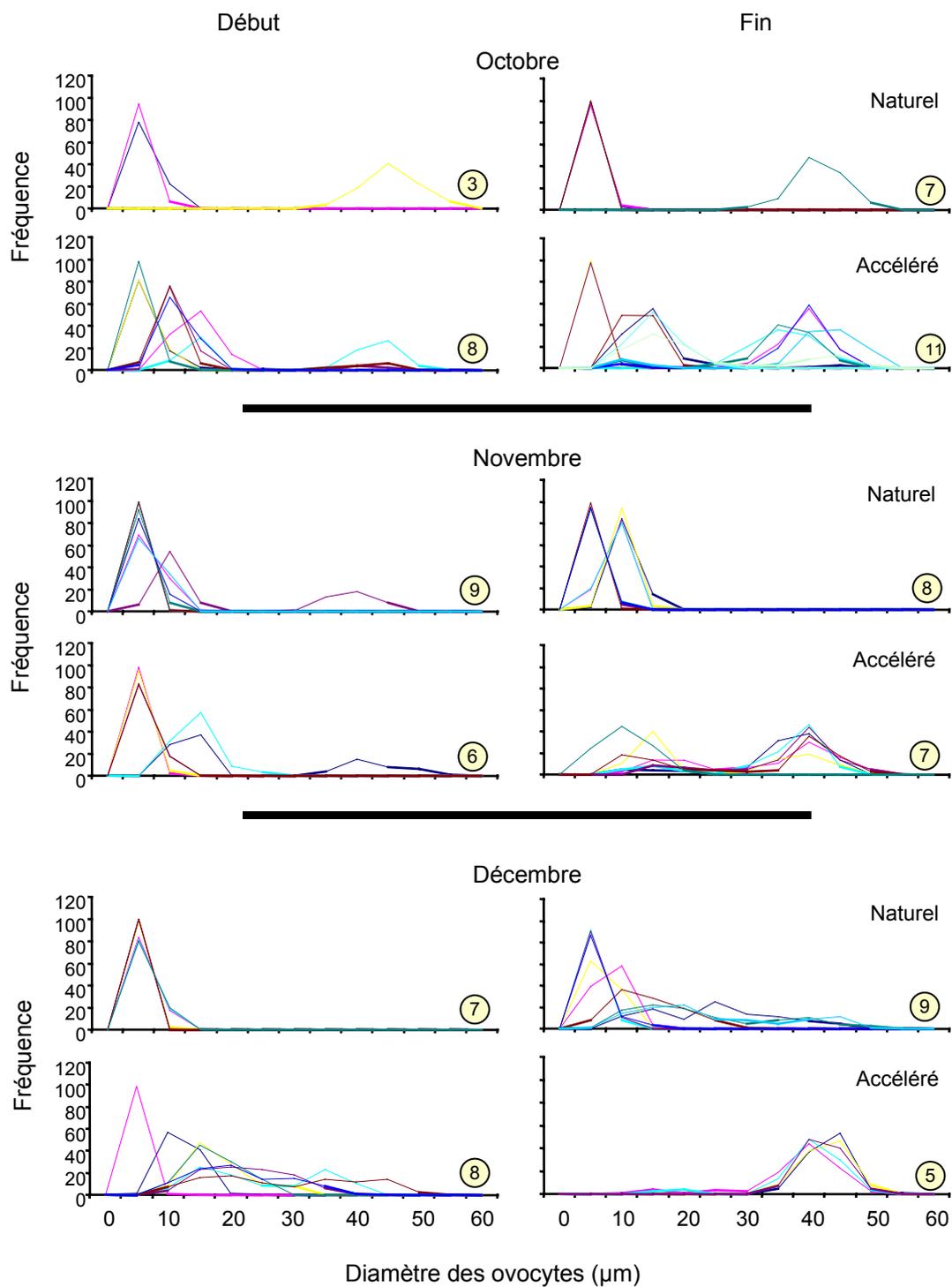


Fig. IV – 4. Distributions des diamètres des ovocytes trouvées au début et à la fin des conditionnements « naturel » et « accéléré » (bacs de maturation). Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre total d'individus mesurés.

L'évolution de la spermatogénèse est similaire dans les deux cycles, mais les proportions les plus grandes de mâles en stade de « croissance » ou « mature » sont détectées dans le cycle « accéléré » à partir de novembre 1998 jusqu'en janvier 1999 (Fig. IV - 5). A la fin des expériences de conditionnement pour les animaux « accélérés », le nombre des « matures » augmente avec le temps ; 25 % en octobre, 66 % en novembre et 100 % en décembre. Dans le cycle « naturel », seulement deux mâles en stade de « croissance » ont été observés pendant la même période (un en octobre et l'autre en novembre).

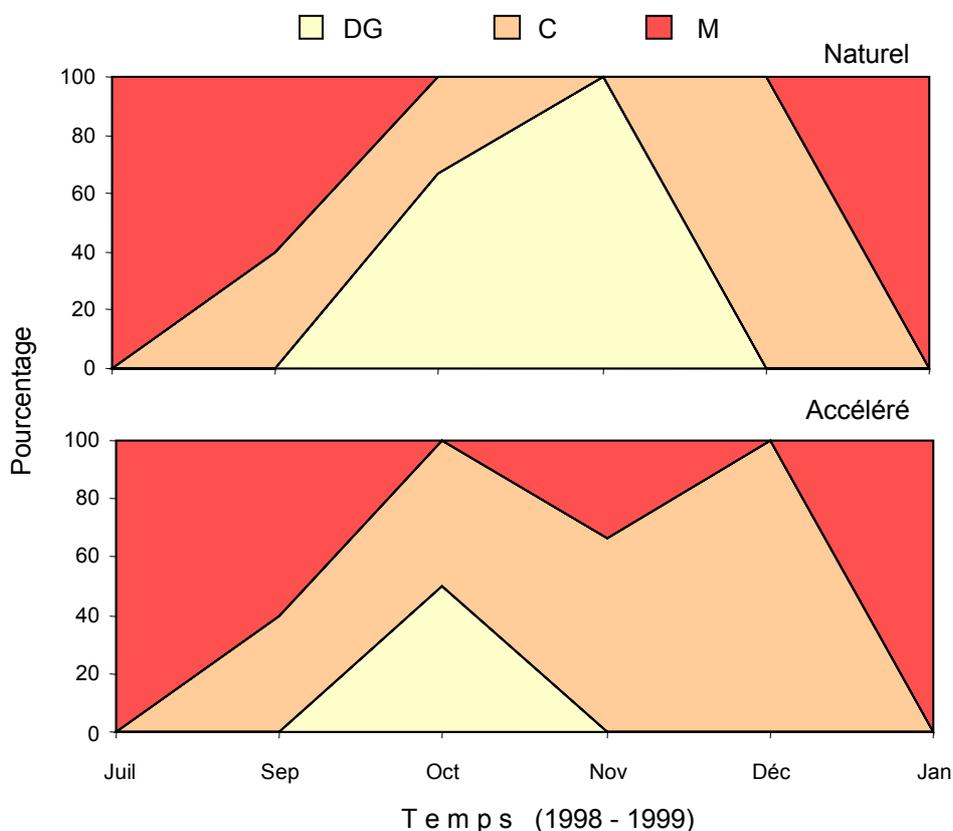


Fig. IV – 5. Evolution des stades reproductifs des huîtres mâles dans les cycles « naturel » et « accéléré ». DG – Stade de « début de gamétogenèse », C – Stade de « croissance », et M – Stade de « maturité ».

La Figure IV - 6 présente les valeurs de l'indice Walne et Mann (IWM) tout au long de la période d'étude pour les deux cycles (les estimations d'octobre, novembre et décembre

correspondent au début des conditionnements). Dans le cycle « accéléré » l'indice varie au cours de temps. La valeur la plus grande est observée en novembre mais des différences significatives ($P < 0.05$) sont constatées entre la première et la dernière mesure. Dans l'autre cycle, l'indice diminue significativement en octobre ($P < 0.05$). L'analyse statistique comparant les deux cycles montre des différences significatives au début des conditionnements d'octobre et de novembre ($P < 0.05$). Des valeurs similaires de l'indice sont trouvées à la fin de chaque conditionnement entre les deux cycles.

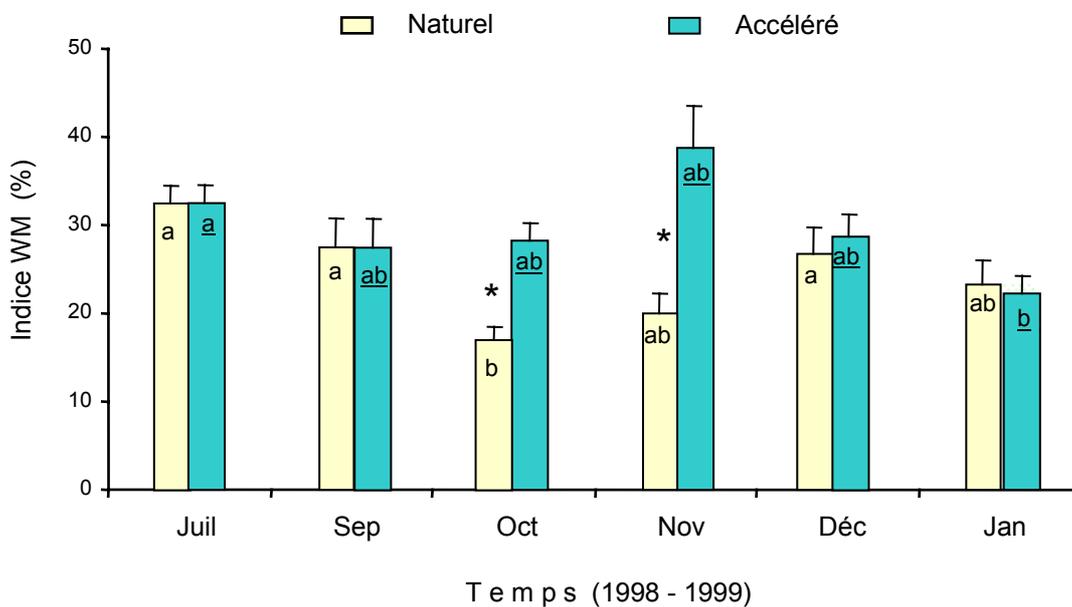


Fig. IV – 6. Valeurs de l'indice Walne et Mann. Les lettres différentes représentent des différences significatives dans le cycle « naturel » (*a* ou *b*) et dans le cycle « accéléré » (*a* ou *b*) après le test de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$). Le symbole * représente des différences significatives entre les deux cycles (test U de Mann Whitney ; $P < 0.05$).

Le nombre d'ovocytes (moyenne \pm erreur standard) obtenus lors des conditionnements et le taux d'éclosion des larves « D » (moyenne \pm erreur standard) après 48 heures d'élevage sont présentés sur la *Figure IV - 7*. Il n'y pas de différences significatives entre les trois périodes étudiées ni entre les deux cycles. Cependant, les huîtres provenant du cycle « naturel » n'ont produit des gamètes que dans le dernier conditionnement (décembre).

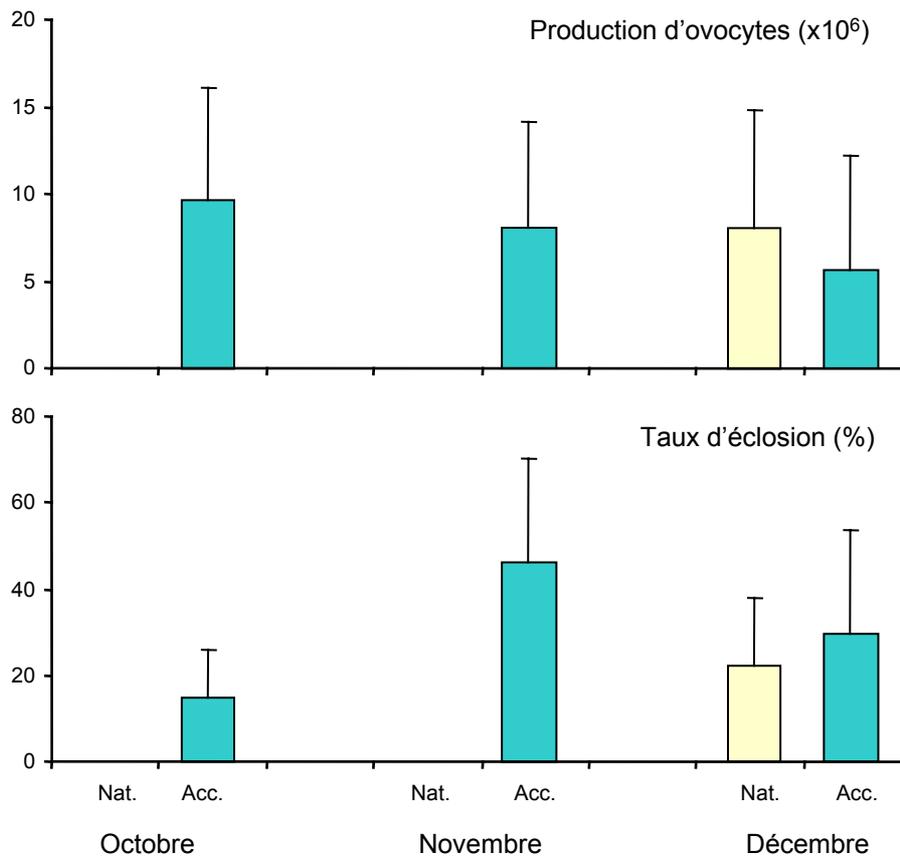


Fig. IV – 7. Production de gamètes et taux d'éclosion (48 heures) à la fin de chaque expérience de conditionnement. Nat. – « naturel » et Acc. – « accéléré ».

Conditions expérimentales 1999

Au cours de l'expérience réalisée en 1998, nous avons observé qu'une accélération du cycle de la température et de la photopériode permet d'obtenir des produits sexuels avec des ovocytes « nouvellement produits » appartenant à une population équivalente à celle rencontrée en juillet dans la nature. Si lors de l'expérience de 1998 nous avons couplé les deux facteurs température - photopériode, pour l'expérience effectuée en 1999 nous avons essayé de suivre l'influence de la photopériode. Nous avons considéré pour cette expérience que durant 1998 les huîtres maintenues dans le cycle accéléré et conditionnées en octobre

ont été prélevées avant d'avoir atteint le minimum thermique du cycle. Dans ce cas, la question qui se pose est la suivante ; est-il nécessaire de passer les huîtres à 9 °C, ou bien un passage à une température de 10, voire 14 °C est-il suffisant pour redémarrer la gamétogenèse ?.

Pour répondre à cette question, nous avons mis en place des expériences de conditionnement en considérant deux séries expérimentales ; dans la première dénommée condition « constante », nous avons testé une température accélérée et une photopériode naturelle (*Fig. IV – 8*). Dans la deuxième, dénommée condition « variable », comme dans l'expérience 1998, nous avons testé une température et une photopériode accélérées (voir *Fig. IV – 1*). Les résultats de l'expérience effectuée en 1998 ont été utilisés comme témoin. Deux lots ont été testés, l'un en provenance de la baie des Veys (B) (huîtres n'ayant pas totalement perdu, contenant des réserves), et l'autre issue de La Tremblade (animaux ayant totalement perdus, ne contenant pas de réserves). L'objectif est de vérifier l'importance de l'état des réserves (et produits sexuels) sur la reprise de la gamétogenèse.

Le lot initial a été mis dans le bac de maintenance en mi-septembre. Le premier échantillon pour chaque lot de chaque condition a été prélevé le 21 septembre 1999 lorsque la température de l'eau était de 17,7 °C. Plutôt que de fixer arbitrairement un seuil (14 °C par exemple) au risque de ne pas obtenir une reprise de la gamétogenèse, nous avons recherché la température seuil en mettant en conditionnement (à 19 °C pendant six semaines) des lots de 20 huîtres prélevées à chaque pas de 1 °C pendant que la température descendait de 14 °C jusqu'à 9 °C (6 lots). Nous avons également mis en conditionnement des huîtres prélevées à 10 et 11 °C pendant que la température augmentait (2 lots).

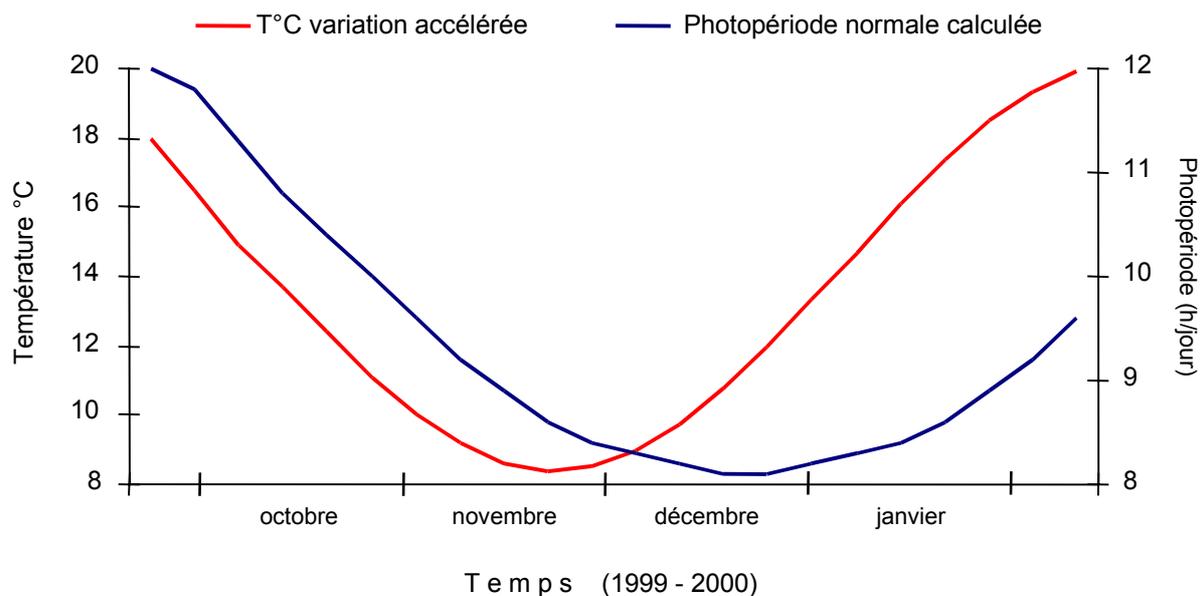


Fig. IV – 8. Variations de la température et de la photopériode pour la condition « constante » dans le but de préparer les huîtres *Crassostrea gigas* pour subir un conditionnement standard.

Paramètres étudiés

Echantillonnage. Dans l'étude cytologique de la gonade, les résultats histologiques de l'expérience réalisée en 1998 ont été utilisés comme témoin pour décrire le début de conditionnement de chaque lot. A la fin de chaque expérience de conditionnement, nous avons prélevé 10 huîtres de chaque groupe pour l'étude histologique. Entre la fin des conditionnements des animaux pris à 14 °C (10 octobre) et 13 °C (15 octobre), nous avons prélevé un deuxième échantillon de 10 huîtres des bacs de maintenance. Ces dernières ont été utilisées comme témoins pour ces deux conditionnements. Nous avons effectué la même opération pour les lots pris à 12 °C (21 octobre) et 11 °C (26 octobre), les huîtres prises à 10 °C (2 novembre) et 9 °C (11 novembre), ainsi que pour les lots récupérés lorsque la température augmentait, 9 °C (7 décembre) et 10 °C (16 décembre) (*Fig. IV – 9*).

Traitement statistique. En plus des analyses réalisées avec les proportions relatives à chaque stade de développement gamétique qui ont été calculées et transformées en « arc –

sinus racine de x » pour chacune des huîtres (voir matériel et méthodes), nous avons fait une analyse de variance à trois facteurs sur les transformés arc - sinus du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » en fonction de 3 variables : température, photopériode et lot.

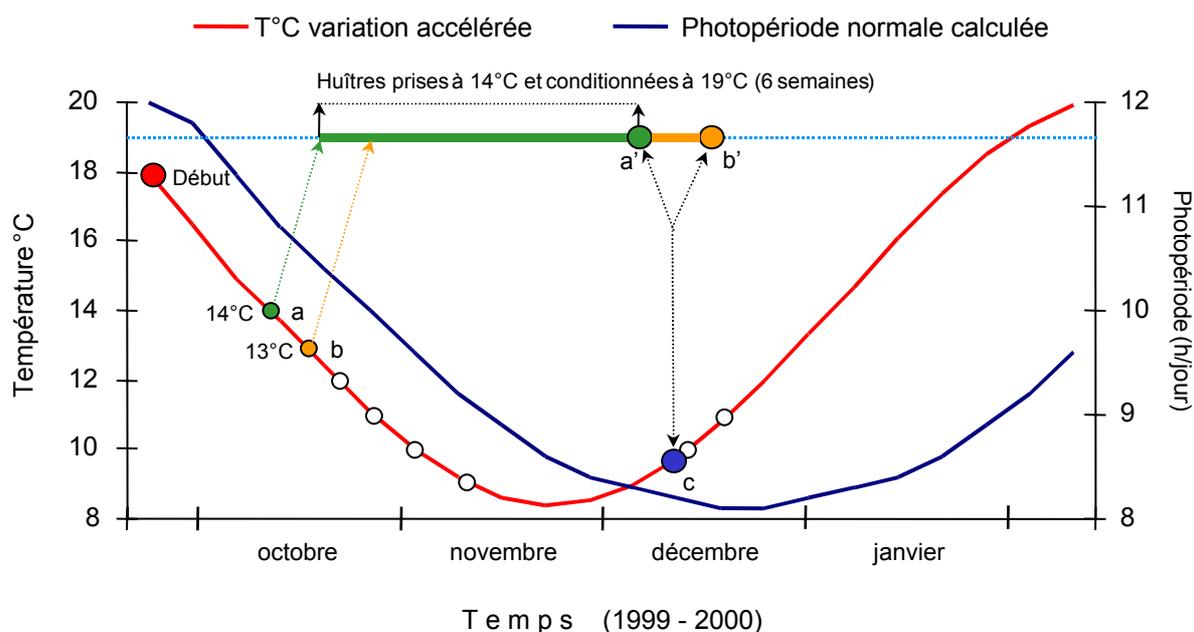


Fig. IV – 9. Schéma d'échantillonnage. **a** – lot pris à 14 °C (lorsque la température descendait) et mis en conditionnement standard (en vert), **a'** – prélèvement des huîtres à la fin de ce conditionnement. **b** - lot pris à 13 °C (lorsque la température descendait) et mis en conditionnement standard (en orange), **b'** – prélèvement des huîtres à la fin de ce conditionnement. **c** - huîtres témoins prélevées du bac de maintenance (pour les lots pris à 14 et 13 °C). Les cercles en blanc indiquent la température à laquelle les autres lots ont été prélevés pour le conditionnement.

Résultats (1999)

La *Figure IV – 10* présente les diamètres ovocytaires des huîtres au début de l'expérience (21 septembre 1999). Les animaux provenant de la baie des Veys contiennent des ovocytes

résiduels (54 %) indiquant que ces huîtres n'ont pas totalement pondu et qu'elles possèdent des réserves. Par contre, les animaux de La Tremblade présentent une proportion basse d'ovocytes en « début de gamétogenèse » montrant que ces huîtres ont émis la majorité de leurs gamètes dans le milieu naturel.

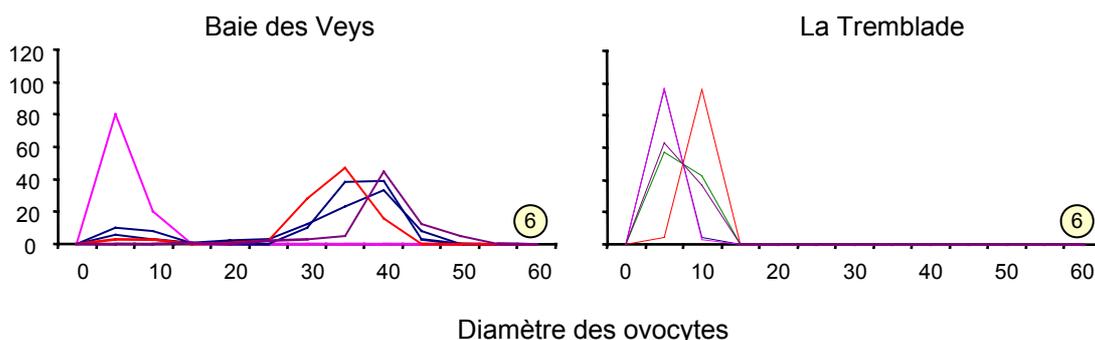


Fig. IV – 10. Diamètre des ovocytes des huîtres au début de l'expérience (21 septembre 1999) (température « accélérée » et photopériode « normale »). Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (6) représentent le total d'individus mesurés.

La *Figure IV – 11* présente l'évolution des diamètres ovocytaires à la fin des conditionnements réalisés pour chaque lot d'huîtres provenant de la baie des Veys dans la condition de photopériode « constante ». Nous avons remarqué que les ovocytes « matures » commencent à être observables dans le lot pris le 21 octobre à 12 °C, et que la proportion relative de ces ovocytes augmente en même temps que la température baisse, de 7.5 % à 12 °C (21 octobre) jusqu'à 39.3 % à 9 °C (11 novembre). Les témoins pour les lots précédents prélevés directement du bac de maintenance ne présentent aucun signe du démarrage de la gamétogenèse. Nous avons constaté cette même tendance pour la condition de photopériode « variable » où les ovocytes « matures » sont observés dans le lot pris à 12 °C (21 octobre) et où leur proportion augmente de 1 % à 12 °C (21 octobre) jusqu'à 32.3 % à 9 °C (11 novembre). Les lots témoins pris à 9 °C (7 décembre) et 11 °C (22 décembre) pour cette condition ne présentent pas de signe d'initiation de leur

gamétogenèse, néanmoins des ovocytes en « vitellogenèse » (18.2 %) sont remarqués dans le lot pris à 15 °C (12 janvier) (Fig. IV – 12).

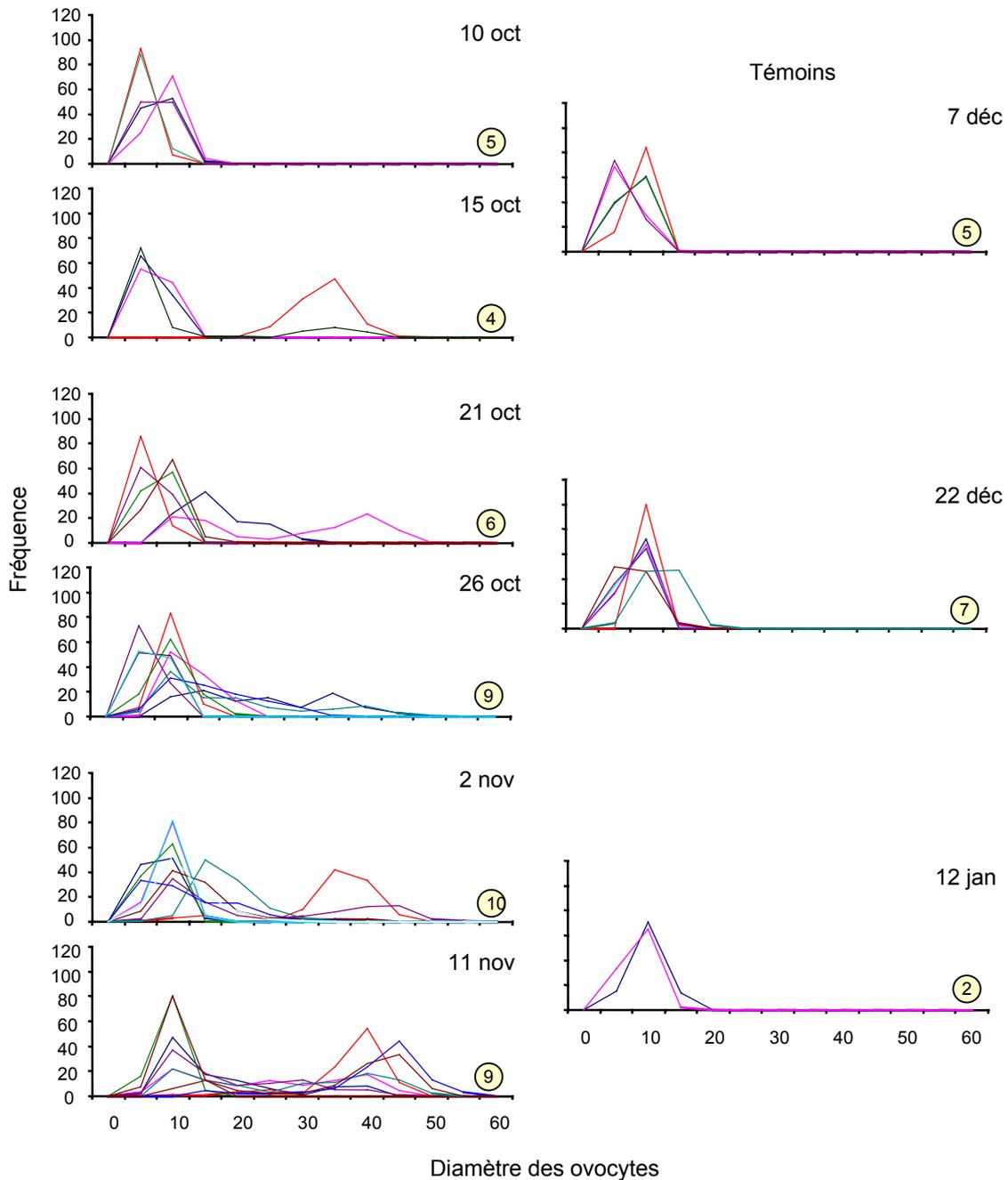


Fig. IV – 11. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de la baie des Veys provenant de la condition de photopériode « constante » (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

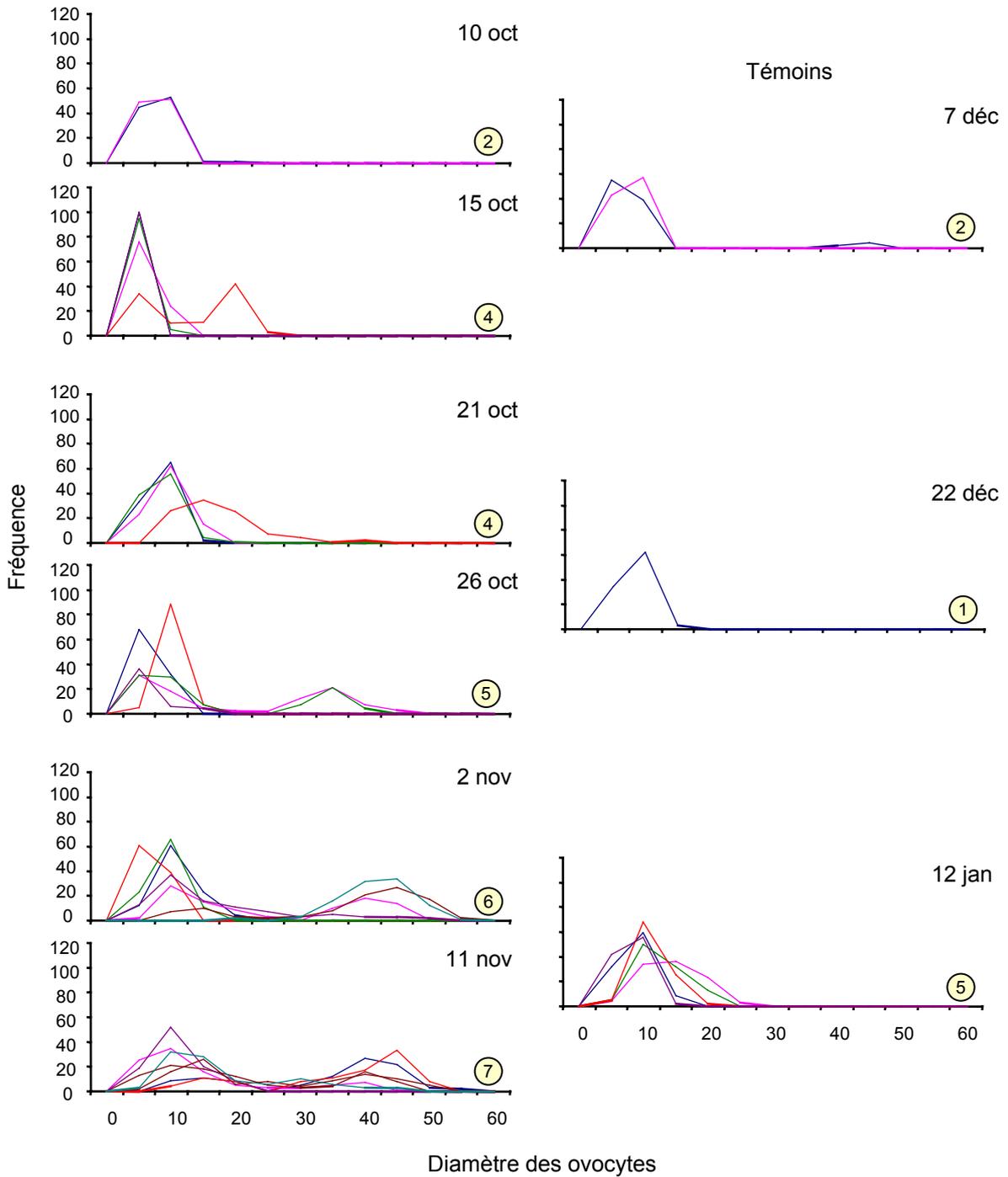


Fig. IV – 12. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de la baie des Veys provenant de la condition de photopériode « variable » (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

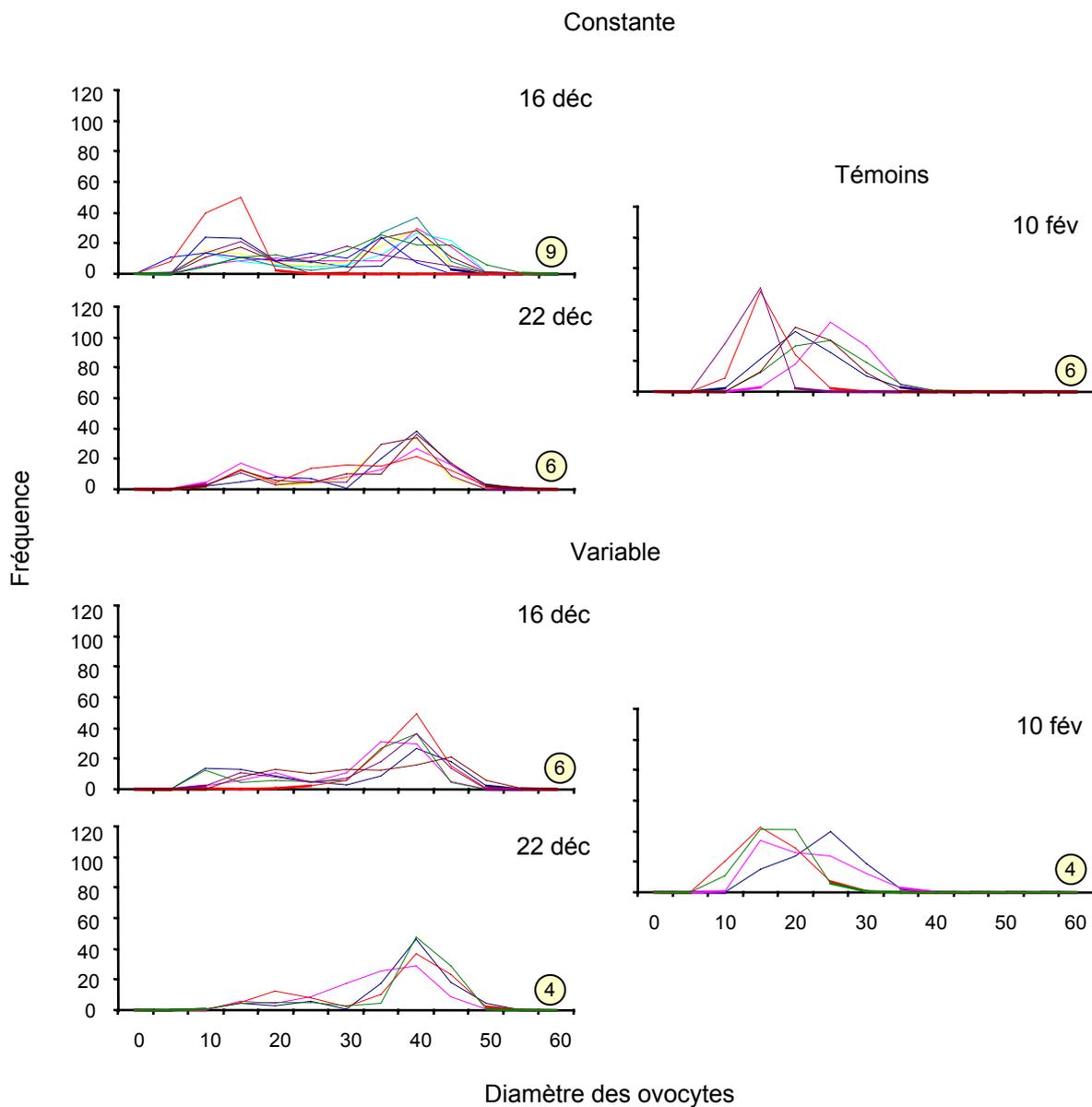


Fig. IV – 13. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de la baie des Veys provenant des conditions de photopériode « constante » et « variable » pendant que la température montait (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

Les variations des diamètres ovocytaires après conditionnement des huîtres provenant de la baie des Veys prises à 10 °C (16 décembre) et 11 °C (22 décembre) pendant que la température augmentait dans les deux conditions (photopériode « constante » et « variable ») sont présentées sur la *Figure IV – 13*. Nous avons observé que la proportion d'ovocytes « matures » augmente pendant que la température augmentait, de 45.7 % (10 °C, 16 décembre) à 65.8 % (11 °C, 22 décembre) dans la condition de photopériode « constante », et de 67.2 % (10 °C, 16 décembre) à 75.8 % (11 °C, 22 décembre) dans la condition de photopériode « variable ». Les lots témoins des deux conditions présentent une proportion plus grande d'ovocytes en « vitellogenèse » (77.3 et 80.5 % respectivement), tandis que les ovocytes « matures » sont minoritaires (2.2 et 1.3 % respectivement).

La *Figure IV – 14* représente l'évolution des diamètres ovocytaires à la fin des conditionnements réalisés pour chaque lot d'huîtres provenant de La Tremblade dans la condition de photopériode « constante ». Ces animaux présentent la même tendance que les huîtres de la baie des Veys : les ovocytes « matures » sont observés dans le lot pris à 12 °C (1 %, 21 octobre) et leur proportion augmente jusqu'à 31 % dans le lot pris à 9 °C (11 novembre). Parmi les lots témoins, seulement le lot prélevé à 15 °C (12 janvier) présente des ovocytes en « vitellogenèse » (15.2 %), signe du démarrage de la gamétogenèse. Les résultats de l'évolution des diamètres ovocytaires pour les huîtres dans la condition de photopériode « variable » n'ont pas suivi une tendance claire comme dans les expériences antérieures (*Fig. IV – 15*). Même si les ovocytes « matures » sont observés dans le lot pris à 12 °C (21 octobre), nous n'avons pas remarqué d'ovocytes en « vitellogenèse » ou « matures » dans le lot pris à 11 °C (26 octobre). La proportion d'ovocytes « matures » la plus élevée a été trouvée dans le lot pris à 10 °C (2 novembre), alors que le lot pris à 9 °C (11 novembre) possède seulement 1 % d'ovocytes « matures ». Les lots témoins affichent la même tendance que celle observée dans la condition de photopériode « constante » (16.3 % d'ovocytes en « vitellogenèse » dans le lot pris à 15 °C, 12 janvier).

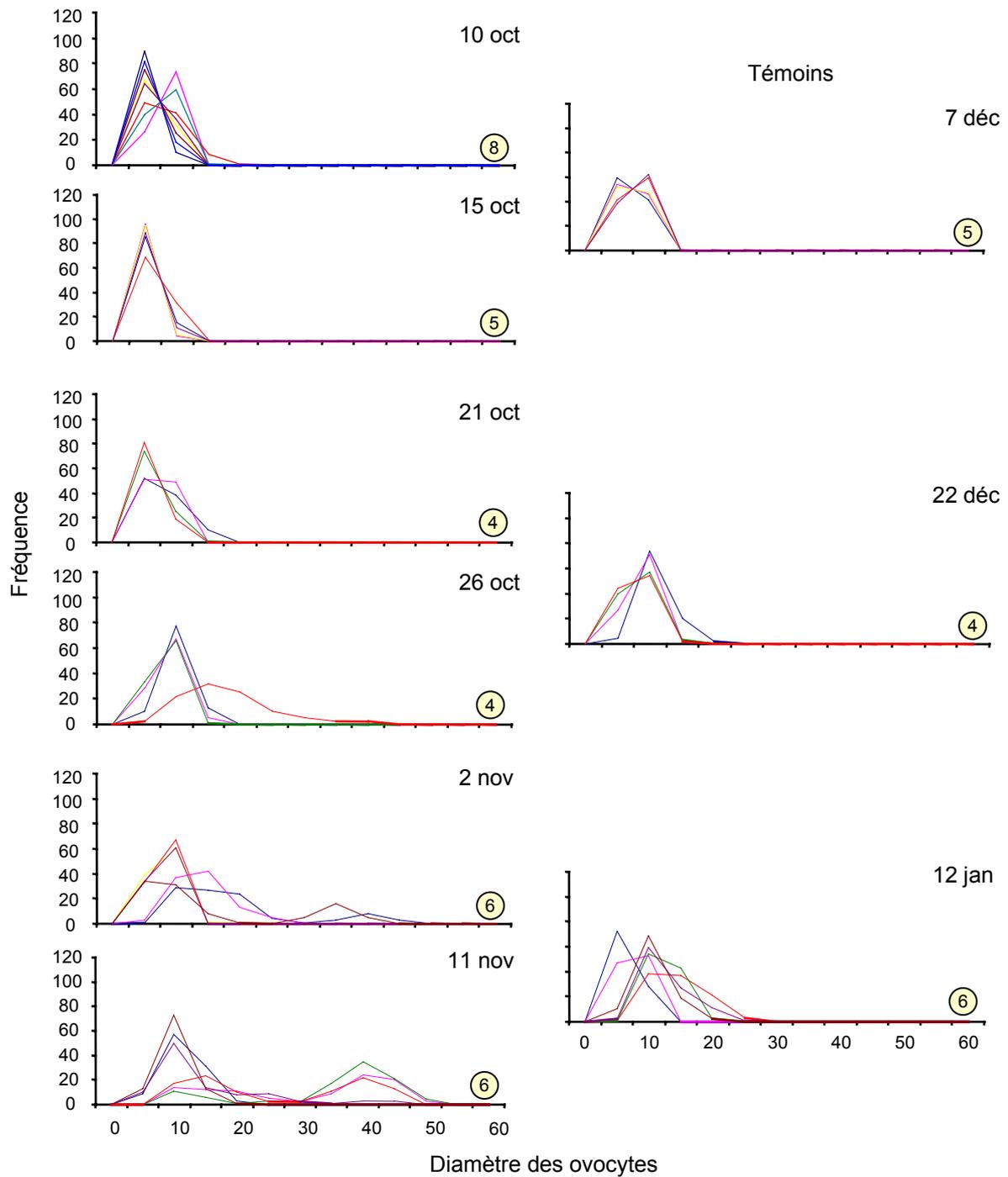


Fig. IV – 14. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de La Tremblade provenant de la condition de photopériode « constante » (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

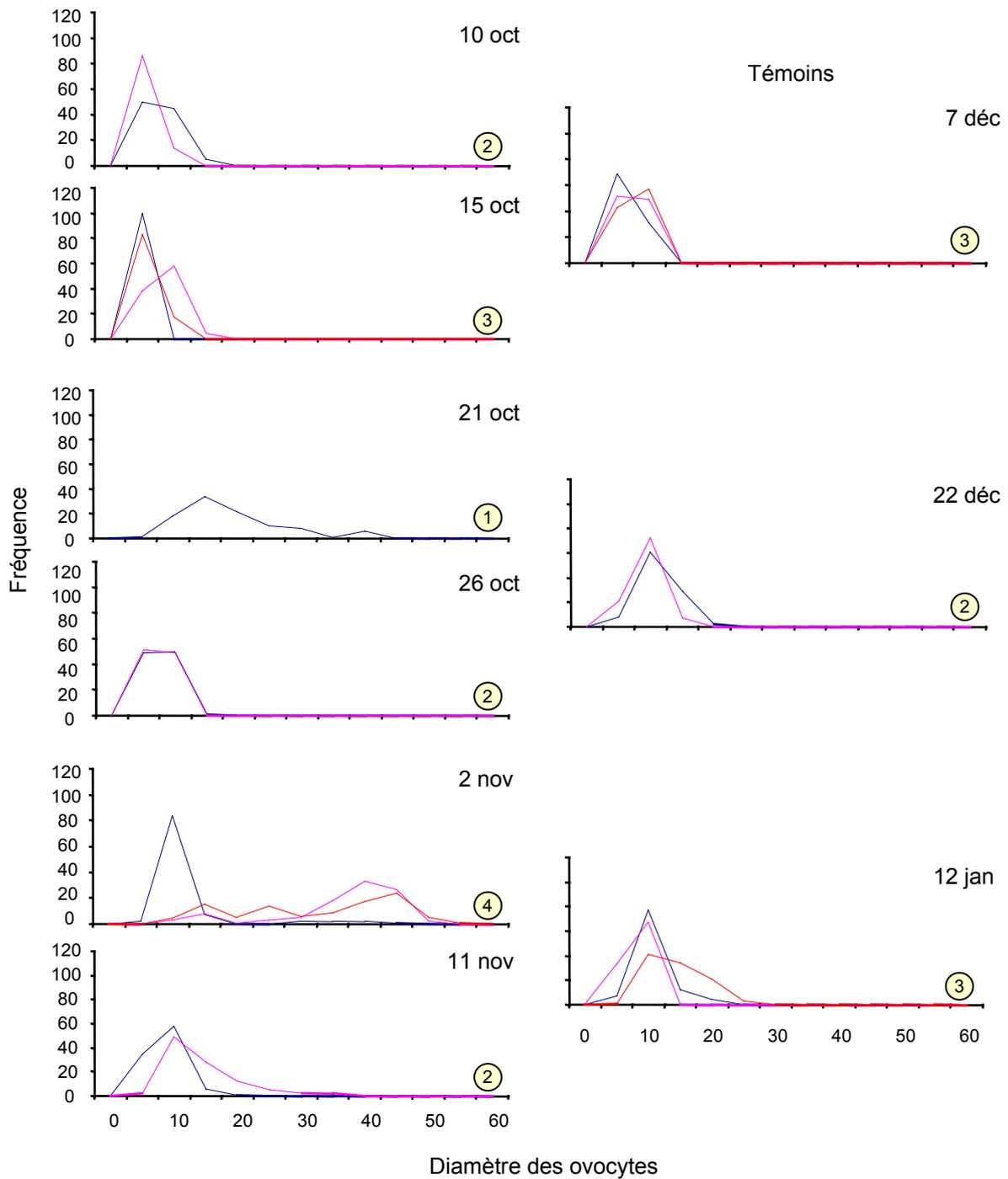


Fig. IV – 15. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de La Tremblade provenant de la condition de photopériode « variable » (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

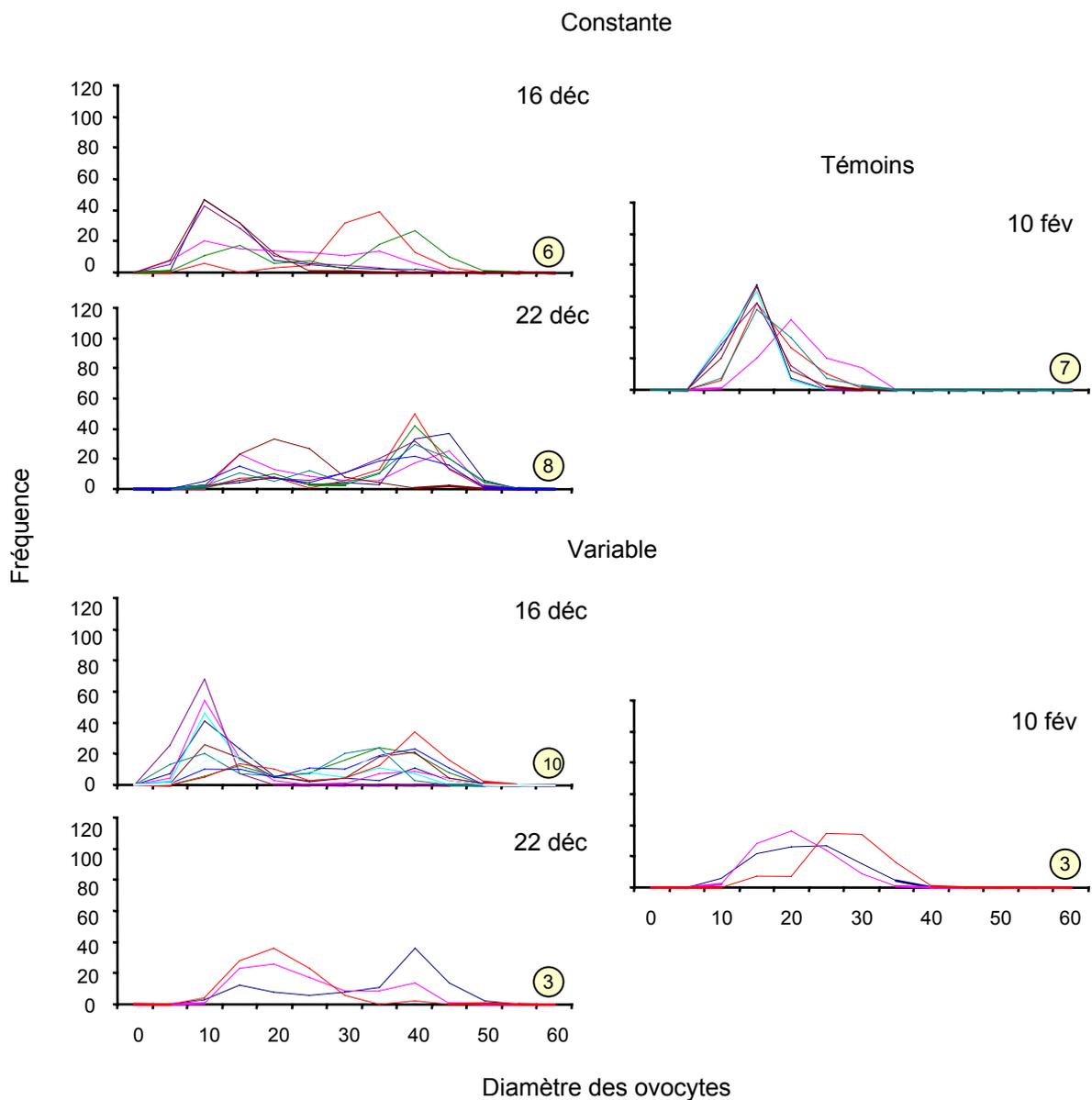


Fig. IV – 16. Variation temporelle du diamètre des ovocytes après conditionnement des huîtres de La Tremblade provenant des conditions de photopériode « constante » et « variable » pendant que la température montait (la date à laquelle les lots ont été pris est signalée), et celle de leurs témoins respectifs. Chaque ligne représente la valeur trouvée pour un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés.

Les résultats de l'analyse de variance multiple démontrent que la photopériode (« naturelle » ou « accélérée ») n'a pas d'effet significatif sur les proportions d'ovocytes (en « début de gamétogenèse », « vitellogenèse » et « matures ») pour toutes les lots. Par

contre, l'effet de la température est statistiquement significatif à un niveau de confiance de 95 % sur toutes les proportions d'ovocytes et sur les deux lots. Nous avons aussi observé qu'il existe un effet du site d'origine sur la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse », les huîtres de La Tremblade ont produit une quantité significativement plus grande d'ovocytes ($P < 0.05$) à ce stade par rapport aux animaux provenant la baie des Veys. Cependant, nous avons constaté que les huîtres de la baie des Veys ont produit une quantité significativement plus grande ($P < 0.05$) d'ovocytes « matures » que celles de La Tremblade (Tableau IV – 1).

Tableau IV - 1. Résultats de l'analyse de variance multiple pour « l'arc – sinus racine de x » du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » en fonction de 3 variables ; température, photopériode et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Début de gamétogenèse					
Lot	2074,8	1	2074,8	4,91	0,0283
Photopériode	278,2	1	278,2	0,66	0,4187
Température	84027,4	7	12003,9	28,38	0,0000
Interactions					
Lot – Photopériode	5,04	1	5,04	0,01	0,9131
Lot - Température	3218,1	7	459,71	1,09	0,3746
Photopériode – Températ.	2169,4	7	309,91	0,73	0,6445
Résidus	62170,7	147	422,93		
Total	166893	171			
Vitellogenèse					
Lot	0,53	1	0,53	0,00	0,9553
Photopériode	339,6	1	339,6	1,99	0,1600
Température	17282,9	7	2468,9	15,5	0,0000
Interactions					
Lot – Photopériode	302,9	1	302,9	1,78	0,1844
Lot - Température	1039,9	7	148,5	0,87	0,5300
Photopériode – Températ.	1215,1	7	173,6	1,02	0,4201
Résidus	25033,2	147	170,29		
Total	47347,6	171			
Mature					
Lot	2351,2	1	2351,2	7,2	0,0081
Photopériode	1,52	1	1,52	0,00	0,9456
Température	42743,1	7	6106,1	18,7	0,0000
Interactions					
Lot – Photopériode	191,9	1	191,9	0,59	0,4447
Lot - Température	1561,8	7	223,1	0,68	0,6864
Photopériode – Températ.	4197,5	7	599,6	1,84	0,0846
Résidus	48029,7	147	326,7		
Total	106564	171			

Le *Tableau IV – 2* donne le nombre d’huîtres mâles observées dans les conditions de photopériode « constante » et « variable » concernant la baie des Veys et La Tremblade. Pour les huîtres de la baie des Veys en condition « constante », nous avons observé un développement plus ou moins net de la spermatogenèse. Néanmoins, le nombre réduit de mâles obtenus dans toutes les conditions ne permet pas de décrire avec précision l’évolution de la spermatogenèse.

Tableau IV – 2. Nombre d’huîtres mâles de *Crassostrea gigas* observées dans les conditions « constante » et « variable » provenant de la Baie des Veys et de La Tremblade et leurs stades de développement gamétique.

Lot / condition	Temp. °C (↓)						Temp. °C (↑)	
	14	13	12	11	10	9	10	11
BV « constante »								
Début de gamétogenèse	1	1	2	1	1			
Vitellogenèse					1	4	4	1
Mature								1
Dégénérescence	4	2	2					
BV « variable »								
Début de gamétogenèse			1	1	1	1		
Vitellogenèse	3				1		3	
Mature								
Dégénérescence	1	3						
LT « constante »								
Début de gamétogenèse								
Vitellogenèse				1	1	1	4	
Mature						1		1
Dégénérescence								
LT « variable »								
Début de gamétogenèse		2	1			2		
Vitellogenèse	1			1	2	1	1	
Mature								
Dégénérescence								

Discussion

La vitesse et la durée de la gamétogenèse chez *Crassostrea gigas* sont variables entre les différentes régions du monde en fonction des conditions environnementales (Dinamani, 1987 ; Ruiz *et al.*, 1992). En conséquence, l’adaptation d’une stratégie reproductive à certaines conditions du milieu est régulée principalement par la température (valeur qui

permet le développement gamétique et l'émission de gamètes), et par les blooms phytoplanctoniques temporaires. Plusieurs études décrivent les cycles reproductifs des bivalves et spéculent sur l'effet des facteurs environnementaux sur le développement des gamètes. La plupart de la littérature qui rapporte sur la reproduction des bivalves de régions tempérées mentionne que les gamétogénèses s'arrêtent pendant l'automne et l'hiver lorsque la nourriture n'est pas abondante et que les conditions physico-chimiques du milieu ne sont pas propices au développement larvaire (Ruiz *et al.*, 1992 ; Paulet *et al.*, 1992, Brosseau, 1995). Fréquemment, la production de naissain dans les écloséries n'est pas possible pendant cette période en utilisant les méthodes standards de conditionnement (Le Penneec, 1997).

L'identification des facteurs responsables de ce phénomène chez *C. gigas* est un enjeu qui nécessite l'analyse de plusieurs origines possibles. La première hypothèse qu'on peut examiner est l'existence d'une phase de dormance pendant laquelle les huîtres ne sont pas réceptives aux signaux provenant du milieu. Il est bien connu que la température de l'eau est un facteur principal qui affecte le développement gonadique des bivalves marins (Loosanoff et Davis, 1963). Pour cette raison, de nombreuses études ont cherché à déterminer la température permettant le développement des ovocytes en conditions contrôlées. Sastry (1968) rapporte pour le pectinidé *Argopecten irradians*, un seuil de température en dessous 15 °C, en deçà duquel cette espèce développe uniquement des ovogonies, mais la vitellogenèse n'a pas lieu même si les animaux sont nourris abondamment. Une fois que les animaux sont placés à une température plus élevée, 20 ou 25 °C, la croissance ovocytaire est initiée s'il y a suffisamment de nourriture. Mann (1979) remarque que le processus de gamétogénèse chez *C. gigas* s'arrête en dessous de 10 °C. Ruiz *et al.* (1992) rapportent pour cette même espèce que le développement gonadique commence toujours au dessus de 10 °C, et que ces huîtres atteignent leur maturité sexuelle à partir de 16 °C en différentes régions du monde.

Barret *et al.* (1999) signalent pour *C. gigas* que pendant l'automne, il n'est pas possible d'obtenir des gamètes et des larves viables en utilisant les méthodes traditionnelles de

conditionnement (température élevée et nourriture abondante). Cependant, il apparaît que les conditions expérimentales utilisées en 1998 provoquant une accélération graduelle du cycle de la température et de la photopériode en présence de nourriture abondante, ont été suffisantes pour stimuler la croissance ovocytaire à partir d'octobre. En novembre 1998, nous avons espéré une production plus élevée d'ovocytes en « vitellogenèse » en provoquant une exposition plus prolongée à ces conditions. Cependant, la variation de la température durant cette période n'a été que de 2 °C, donc similaire à celle obtenue lors des mois précédents. Pourtant, la présence d'ovocytes en « vitellogenèse » au début des conditionnements dans les conditions « accélérées » semble indiquer que les huîtres ne sont plus dans la période réfractaire et démontre l'efficacité d'un conditionnement standard pendant cette période. Ainsi, les huîtres prélevées du cycle « accéléré » et conditionnées en octobre et novembre 1998 ont respectivement produit en moyenne 9 et 7 millions d'ovocytes. Bayne *et al.* (1975) ont indiqué que l'induction à la maturation des bivalves n'aboutit à un succès qu'avec des animaux ayant développé des cellules sexuelles au moins jusqu'à une étape de leur division. Il est important de remarquer que les ovocytes en « vitellogenèse » observés dans notre expérimentation ont été produits en présence d'ovocytes résiduels. Dupuy *et al.* (1977) rapportent que pour obtenir des animaux matures pendant l'automne chez *Crassostrea virginica*, le conditionnement doit débiter avec des huîtres qui ont partiellement pondues en mi-juin, car la résorption des ovocytes non émis après la ponte retarde proportionnellement le démarrage de la gamétogenèse. Sastry (1979) indique que chez quelques espèces de pectinidés, la maturation gamétique peut être accélérée après que les animaux aient complété certaines activités post-ponde. Il semble que l'auteur fasse référence au phénomène de résorption des gamètes dans la gonade, signalé par exemple chez *Pecten maximus* par Le Pennec *et al.* (1991).

Nous avons observé que même si l'expérience de 1999 a commencé un mois plus tard que celle de 1998, l'effet d'accélérer la variation de la température a stimulé également la croissance ovocytaire pendant la période réfractaire. Nous avons confirmé les résultats de 1998 en obtenant des ovocytes « matures » à partir d'huîtres prélevées le 21 octobre à

12 °C et mises en conditionnement standard. Par contre, les observations de 1999 concernant les animaux de la baie des Veys pris pendant que la température s'élevait (10 et 11 °C le 16 et 17 décembre respectivement), sont similaires à celles réalisées chez les huîtres prélevées au même site et conditionnées en décembre – janvier et où les animaux ont produit des ovocytes « matures » à la fin du conditionnement (voir chapitre V). Ces résultats pourraient indiquer que la réponse positive au conditionnement de la part des huîtres expérimentées en 1999, ne serait due à la stimulation de la variation de la température, mais plutôt au fait que la reprise de la gamétogenèse est déjà commencée dans la nature à cette époque de l'année (décembre). Cependant, nous avons remarqué que les huîtres en provenance de La Tremblade et conditionnées durant décembre – janvier n'ont pas réagi à la stimulation de la température (chapitre V), comme l'ont fait celles de l'expérience de 1999 (même site) prises pendant que la température s'élevait (10 et 11 °C les 13 et 17 décembre respectivement). On considère que la réponse positive de ces huîtres est due à la nourriture abondante reçue pendant le conditionnement et qui leur a permis de constituer un stock de réserves suffisant pour leur permettre de démarrer leur gamétogenèse (voir chapitre VI).

Par ailleurs, les huîtres maintenues dans le cycle « accéléré » et conditionnées en octobre 1998, ont été prélevées avant d'avoir atteint le minimum thermique du cycle. Les résultats de 1999 ont montré que les huîtres de la baie des Veys, comme celles de La Tremblade, prélevées le 10 octobre (14 °C) et le 15 octobre (13 °C) pendant que la température descendait, n'ont pas produit d'ovocytes en « vitellogenèse » lors du conditionnement. C'est à partir des animaux pris le 21 octobre (12 °C) que la production d'ovocytes augmente avec la diminution de la température dans les deux lots. Ces observations suggèrent que le seuil minimal de température pour le démarrage de la gamétogenèse chez *C. gigas* se situe environ à 12 °C, et cela pourrait expliquer pourquoi dans nature la reprise de la gamétogenèse est observée lorsque la température se trouve encore en phase décroissante. Lubet (1976) rapporte que la reprise de l'activité génitale de *C. gigas* des côtes de la Manche coïncide avec les plus basses températures hivernales (8 – 9 °C).

Des études sur des poissons considèrent la photopériode comme un facteur déterminant sur l'évolution des cycles sexuels car elle stimule le système endocrine (Jonassen *et al.*, 2000). L'effet de ce paramètre sur la gamétogenèse des bivalves est encore mal connu. Quelques études ont montré qu'une augmentation de la photopériode en parallèle avec la température peut stimuler, au sens large, la reproduction chez *Pecten maximus* (Devauchelle et Mingant, 1991 ; Saout *et al.*, 1999). Les résultats que nous avons obtenu en 1998 ont montré qu'une accélération simultanée de la température et de la photopériode, sur la phase décroissante du cycle, permettait la croissance d'ovocytes pendant la période de repos sexuel chez *C. gigas*. Cependant, les résultats de 1999 ont aussi montré que la photopériode n'a en apparence aucun effet sur la reprise de la gamétogenèse. Tant dans le cycle de photopériode « constante » que dans celui de photopériode « variable » le développement d'ovocytes s'est déroulé de manière similaire, et les résultats histologiques obtenus lors des conditionnements ne montrent aucune différence ni entre les deux conditions, ni entre les deux lots testés. Les résultats antérieurs semblent indiquer que la photopériode ne doit pas être considérée comme un facteur régulateur de la reprise de la gamétogenèse chez *C. gigas*. Cependant, il serait intéressant de confirmer ces observations en refaisant d'autres séries expérimentales.

En regardant les résultats précédents, on peut considérer que les huîtres sont réceptives aux variations de la température de l'eau pendant la phase de repos sexuel. Une deuxième hypothèse peut alors être proposée au vue des problèmes rencontrés pendant les conditionnements réalisés en automne. Cette supposition est qu'il n'existe probablement pas suffisamment de réserves pour induire une nouvelle génération d'ovocytes pendant cette période. Il a été démontré que le cycle de stockage du glycogène est étroitement lié au cycle de reproduction naturelle des bivalves (Gabbott, 1975 ; Mann, 1979). Dans les mers tempérées, l'abondance du phytoplancton varie de façon saisonnière, avec une floraison intense pendant le printemps, des niveaux moyens à bas pendant l'été et l'automne, et les plus faibles durant l'hiver (Himmelman, 1999). Généralement, les réserves sont accumulées pendant et après le bloom printanier, et les réserves qui sont stockées

ultérieurement après les émissions gamétiques peuvent varier selon l'abondance du phytoplancton. Il semble évident que les périodes d'accumulation de réserves et de production de gamètes sont temporellement séparées chez les bivalves (Emmett *et al.*, 1987 ; Thompson et MacDonald, 1990). Berthelin *et al.* (2000) ont montré que le stockage du glycogène chez *C. gigas* a lieu pendant l'automne et l'hiver et que les réserves sont utilisées ultérieurement pour la gamétogenèse. L'accumulation de nutriments a aussi donc lieu pendant l'automne, permettant ainsi de constituer un stock de réserves qui autoriserait la formation d'une nouvelle génération d'ovocytes pendant cette saison.

Les résultats concernant l'indice de Walne et Mann présentent les valeurs les plus élevées dans la condition « accélérée », notamment en octobre et novembre, mois pendant lesquels nous avons détecté des différences significatives entre les deux conditions. Ces observations suggèrent que l'effet d'accélérer la variation de la température de l'eau provoque l'accumulation de nutriments dans les huîtres maintenues dans la condition accélérée pendant cette période. Ces résultats sont en accord avec les observations histologiques qui montrent que les réserves ont été utilisées pour la gamétogenèse dans les huîtres « accélérées ». A l'inverse, les valeurs les plus basses de cet indice ont été obtenues pendant la même période dans la condition « naturelle ». Différents auteurs considèrent que la maturation de gamètes en conditions artificielles peut être accélérée seulement après que les animaux aient accumulé un certain niveau de réserves (Bayne *et al.*, 1975 ; Sastry, 1979). Néanmoins, au début du conditionnement de décembre, nous n'avons pas trouvé de différences entre les deux traitements. Des expériences réalisées auparavant ont démontré que le conditionnement de *C. gigas* est possible à partir de décembre pour obtenir des larves viables en janvier (voir chapitre V).

En choisissant deux lots avec un niveau différent de réserves pour l'expérience de 1999, des huîtres qui n'ont pas totalement perdu contenant des réserves (baie des Veys) et des animaux sans réserves ayant totalement perdu (La Tremblade), nous avons pu mettre en évidence le rôle de ce paramètre sur la production d'ovocytes lors des conditionnements automnaux. Nous avons constaté que les huîtres de La Tremblade présentaient plus

d'ovocytes en « début de gamétogenèse » que les animaux de la baie des Veys. La présence d'une grande proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » dans les animaux de La Tremblade semble être un indicateur que ces huîtres ont besoin d'accumuler un stock minimum de réserves pour démarrer leur gamétogenèse. Nous avons constaté que les huîtres de la baie des Veys ont produit la quantité la plus élevée d'ovocytes « matures » à la fin de tous les conditionnements (différences significatives à un niveau de confiance de 95 %). Ces résultats suggèrent que les réserves des huîtres de la baie des Veys leurs ont permis d'initier la gamétogenèse plus tôt que celles de La Tremblade, et de produire une quantité plus élevée d'ovocytes « matures ». Dans le chapitre V, nous soulignerons le rôle des réserves sur la gamétogenèse en prenant comme exemple six lots différents d'huîtres de la côte atlantique française.

Lannan *et al.* (1980) ont souligné l'importance de connaître le temps et la durée du cycle sexuel des animaux qui vont être exposés à un conditionnement artificiel. La survie larvaire dans les systèmes d'élevage est en relation étroite avec l'état de développement des géniteurs, en particulier avec la quantité initiale de lipides totaux dans les gamètes (Gallager et Mann, 1986). Ces observations impliquent qu'une quantité minimale de lipides est essentielle pour la survie des larves pendant la phase endotrophe et le passage à l'exotrophie (Thompson *et al.*, 1996). Les lipides augmentent en parallèle au développement gamétique, diminuent lors de la ponte et commencent à s'accumuler pendant la période de repos sexuel suivant la variation des blooms phytoplanctoniques (Abad *et al.*, 1995). Le nombre d'ovocytes produits par les huîtres des conditions « accélérée » et « naturelle » de 1998 correspond aux valeurs rencontrées pendant les conditionnements effectués pendant l'hiver et le printemps avec six lots différentes d'huîtres (voir chapitre V). Par ailleurs, la moyenne du rendement larvaire (larves « D ») obtenue après 48 heures dans les quatre expériences de conditionnement réalisées en 1998 est en concordance avec les résultats rapportés par Robert et Gérard (1999) pour *C. gigas* pour les mois de février et mars. Pourtant, il est probable que la quantité nécessaire de réserves (lipides) ait été accumulée tout au long de l'expérience de conditionnement, et que cette quantité soit similaire à celle

trouvée dans les huîtres en provenance de la nature, en considérant que la variation des lipides et d'acides gras dépend de la disponibilité et de la quantité de nourriture (Abad *et al.*, 1995). La valeur la plus élevée de l'indice Walne et Mann trouvée chez les huîtres « accélérées » correspond au pourcentage le plus élevé du rendement larvaire obtenu dans nos expériences. Néanmoins, Le Pennec *et al.* (1998) signalent que des individus adultes de *Pecten maximus* récoltés dans le milieu naturel pendant l'automne émettent peu d'ovocytes mais présentent un taux de fertilisation élevé et une production de larves de grande qualité (survie d'environ 40 %).

En considérant les résultats et observations précédents, nous pouvons supposer que l'accélération graduelle de la variation de la température réalisée avant les expériences de conditionnement semble avoir réajusté l'horloge interne en avançant l'initiation de la gamétogenèse chez *C. gigas*. Les cycles de reproduction chez les bivalves sont affectés par l'interaction de facteurs exogènes (température, salinité, lumière) et facteurs endogènes (« hormones ») (Saout *et al.*, 1999). Pour la régulation de la gamétogenèse il existe une rétro-alimentation complexe entre les « hormones » et la mobilisation de nutriments (Thompson *et al.*, 1996). Bien que l'information concernant la nature et la fonction de substances gonadotrophes soit limitée, il est admis que les prostaglandines jouent un rôle important sur la reproduction des bivalves, spécialement dans la maturation des ovocytes (Deridovich et Reunova, 1993). Ces auteurs signalent également que la prolifération des gamètes a lieu pendant que la synthèse des prostaglandines est minimale, et que l'action sur les cellules sexuelles des bivalves peut être définie comme un facteur qui stimule les mitoses goniales. Il semble donc que l'accélération de la variation de la température pendant l'automne stimule la gamétogenèse chez *C. gigas*. Ceci suggère que l'horloge interne chez cette espèce est contrôlée par les facteurs environnementaux, en particulier par la température. Lubet (1976) émet l'hypothèse que la reprise de l'activité génitale serait sous la dépendance d'une horloge interne neuroendocrinienne qui déterminerait la réinitiation et l'amplitude du cycle sexuel, et que ce rythme interne pourrait être modifié par des « synchronisateurs » ou facteurs externes parmi lesquels la température jouerait le rôle

essentiel. Nous avons noté chez *C. gigas* que les cellules germinales produisent des jeunes ovocytes pendant la période automnale, que ces cellules restent dans un état quiescent durant l'automne et l'hiver, et que la réactivation de leur développement se produirait lorsque la température et la disponibilité de nourriture augmentent (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Selon les résultats de notre étude, nous pouvons penser que la gamétogenèse chez *C. gigas* ne s'arrête pas réellement, sinon que les ovocytes restent dans un stade d'« attente » jusqu'à ce que les facteurs « synchronisateurs », exogènes (température) et endogènes (« hormones ») réactivent la gamétogenèse.

Conclusion

Le fait de provoquer l'accélération du cycle naturel de la température pour arriver graduellement aux conditions d'hiver en octobre semble être la clé pour réactiver le cycle de la gamétogenèse pendant cette période où l'activité sexuelle est minimale chez *C. gigas*. Ces résultats montrent que l'horloge interne qui régule la gamétogenèse chez cette espèce peut être modifiée par l'influence des facteurs du milieu, en particulier par la température. Nous avons pu observer que les huîtres prélevées le 21 octobre à 12 °C pendant que la température se trouvait en phase descendante, et conditionnées à 19 °C, commencent leur développement gamétique avant les animaux prélevés à des températures supérieures. Ceci peut expliquer pourquoi, dans la nature, les huîtres commencent leur développement gamétique avant d'arriver au minimum thermique du cycle. Nous avons également remarqué que les huîtres de La Tremblade exposées à 9 °C (minimum du cycle) et prélevées pour le conditionnement pendant que la température s'élevait (10 et 11 °C les 16 et 22 décembre respectivement), réagissent à la stimulation du conditionnement par comparaison à un lot d'animaux du même site d'élevage conditionné pendant la même époque (décembre – janvier) qui n'a réagi pas au conditionnement. La réponse positive de ces huîtres dans

l'expérience de 1999, semble être en relation avec l'apport de phytoplancton donné pendant le conditionnement.

Concernant la photopériode, nous pouvons dire que ce paramètre n'exerce pas un rôle dominant sur la reprise de l'activité gamétique dans les conditions expérimentales que nous avons testées. Cependant, des recherches portant sur l'effet de ce paramètre sur la gamétogenèse doivent être poursuivies en considérant par exemple, un cycle de photopériode accélérée couplé à un cycle de température naturelle afin de vérifier les résultats précédents (un plan factoriel est recommandé). Finalement, nous avons pu observer que les réserves jouent un rôle important sur la production d'ovocytes lors des conditionnements automnaux puisque les huîtres de la baie des Veys initient leur développement gamétique et produisent significativement plus d'ovocytes « matures » que celles provenant de La Tremblade.

V - Conditionnement, production d'ovocytes et élevage larvaire de différents lots de *Crassostrea gigas*

Introduction

En France les professionnels réalisent l'élevage de *C. gigas* en quatre étapes ; la collecte de naissain, son prégrossissement, l'élevage et l'affinage (Cochard, 1990). Des juvéniles de 12 à 18 mois sont transportés des sites de captage (bassins d'Arcachon et de Marennes-Oléron) aux sites de production où l'élevage continue jusqu'à ce que les huîtres atteignent la taille commercialisable, c'est à dire, de 18 à 30 mois au plus tard selon la région (voir *Fig. 1 – 2*). *C. gigas* peut atteindre l'âge de première maturité sexuelle en 12 – 18 mois en France (Soletchnik *et al.*, 1997). Ceci indique que les huîtres complètent au moins deux cycles de reproduction avant de terminer leur période d'élevage dans les sites de production. Si on considère que dans les différentes régions les huîtres sont confrontées à des fluctuations de température, de photopériode, de qualité et quantité de matériel particulaire en suspension (seston), et des processus qui affectent leur activité physiologique (Barillé *et al.*, 1994 ; Gouletquer *et al.*, 1996), on peut s'attendre à des variations géographiques importantes de la gamétogenèse chez *C. gigas* sur les côtes françaises.

En conditions de laboratoire beaucoup de facteurs, dont ceux qui affectent la gamétogenèse et le conditionnement de géniteurs, modifient la performance de l'élevage larvaire et également le développement des juvéniles (Martínez *et al.*, 2000). Le Pennec *et al.* (1998) ont remarqué que le développement des gamètes de pectinidés, et en conséquence la production larvaire, sont extrêmement variables dans les écloséries et les résultats ne sont pas reproductibles d'une année à l'autre. Lannan *et al.* (1980) ont montré que, chez *C. gigas*, cette variation est liée en partie au stade de développement gonadique des huîtres utilisées comme géniteurs et que tout dépend des composants

environnementaux et des comportements héréditaires. Des études saisonnières ont indiqué que les performances reproductives des bivalves sont étroitement liés aux facteurs environnementaux comme la température et la disponibilité en nourriture (Ruiz *et al.*, 1992). D'ailleurs, le phytoplancton en régions tempérées varie de façon saisonnière en présentant des changements cycliques des nutriments (glycogène, lipides, acides gras, etc.) (Gabbott, 1975 ; Abad *et al.*, 1995). De la même manière, les substances régulatrices d'action gonadotrope qui jouent un rôle important sur la croissance des ovocytes, la maturation et les pontes, varient également de manière cyclique (Deridovich et Reunova, 1993).

Les observations antérieures nous indiquent que dans les éclosions, il est essentiel de connaître le stade gonadique des géniteurs au moment du conditionnement ainsi que la vitesse de la gamétogenèse pendant la phase du conditionnement pour obtenir des gamètes en état optimal de développement (Lannan *et al.*, 1980). En plus, les variations saisonnières de l'état gonadal des huîtres doivent être connues quand on expérimente sur des géniteurs provenant de sites différents. L'objectif de cette étude est de connaître la réponse d'huîtres captées dans la même région (bassin d'Arcachon) mais élevées dans six différents sites de la côte atlantique française. Nous avons étudié le conditionnement, la production d'ovocytes et l'élevage larvaire simultanément pendant trois périodes différentes de l'année, avec des huîtres provenant de régions distinctes ; baie des Veys, Aber Benoît, Baden, Bouin, La Tremblade et Arcachon.

Conditions expérimentales

Six lots de 150 huîtres (âgées de 3 ans) chacun ont été prélevés de différents sites de la côte atlantique française ; baie des Veys (BV), Aber Benoît (AB), Baden (Ba), Bouin (B), La Tremblade (T) et Arcachon (A). (*Fig. II - 2*). Les animaux ont été transportés au Centre IFREMER de Brest, et à leur arrivée ils ont été nettoyés et ensuite répartis aléatoirement dans des bacs de maturation. La température de l'eau dans les bacs a été d'abord réglée sur

celle rencontrée dans le milieu naturel lors de la récolte, et après une semaine d'acclimatation, elle a été augmentée progressivement de 1 °C par jour jusqu'à 19 °C, puis maintenue constante à plus ou moins 0.5 °C, et la photopériode fixée à 16 heures d'éclairement par jour (conditionnement standard). Cette procédure a été reproduite de manière identique trois fois : le 7 décembre 1998, le 8 février et le 20 avril 1999. Les huîtres ont été prélevées également le 17 juin et le 22 juillet 1999, mais elles n'ont pas subi de conditionnement car elles étaient matures dans la nature à cette période.

Après acclimatation, chaque lot a été subdivisée en deux groupes ; un groupe dénommé « avec nourriture » ou témoin, et le deuxième groupe appelé « sans nourriture ». Les huîtres « avec nourriture » ont été alimentées de manière standard. Le second groupe a été conditionné sans nourriture pendant toutes les expériences.

Paramètres étudiés

Echantillonnage. Un échantillon de 20 individus a été prélevé aléatoirement dans chaque lot à l'arrivée des huîtres dans le laboratoire et à la fin des expériences de conditionnement. Les échantillons provenant des huîtres récoltées en juin et juillet ont été prélevés immédiatement après les mesures biométriques.

Cytologie. Dix individus de chaque échantillon ont été prélevés aléatoirement en vue de l'analyse histologique de la gonade.

Indices. L'indice de Walne et Mann a été déterminé en utilisant les 10 huîtres restantes de chaque échantillon.

Obtention de gamètes. A la fin des conditionnements l'obtention de gamètes a été faite par scarification de la gonade de la totalité des huîtres restantes. En juillet, les gonades ont été disséquées sans conditionnement des géniteurs.

Taux d'éclosion et élevage larvaire. Après fécondation, 1.10^6 d'œufs provenant de 5 femelles par lot ont été mis ensemble dans des bacs expérimentaux et après 48 heures les larves ont été récupérées afin d'estimer le taux d'éclosion. Les larves ont été élevées de manière standard. Les échantillons pour évaluer la croissance larvaire ont été prélevés au cours des jours 2, 9 et 16 de l'élevage.

Traitement statistique. Nous avons effectué des analyses de variance à deux facteurs ($P < 0.05$) dans le but de connaître l'effet des conditionnements et du site d'origine sur l'indice Walne – Mann et sur la production d'ovocytes (logarithme du nombre d'ovocytes) des huîtres nourries et non nourries. Nous avons utilisé des analyses de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) pour connaître l'effet des conditionnements, du temps et du site d'origine (lots) sur le développement larvaire des animaux nourris et non nourris. Des comparaisons du nombre d'ovocytes (logarithme) produits et de la taille des larves (dernier jour d'élevage) entre les lots nourries et non nourries ont été réalisées à l'aide du test de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$).

Résultats

Ovogenèse

Les résultats de cette section représentent l'évolution des ovocytes de décembre 1998 à juillet 1999 sans considération des résultats des conditionnements. La taille moyenne des ovocytes de chaque lot est présentée par la *Figure V-1*. En général, pour les six lots d'huîtres les tailles des ovocytes, ont suivi la même distribution, à l'exception du lot de l'Aber Benoît qui a présenté des ovocytes résiduels en décembre 1998. Par ailleurs, dans ce même lot nous avons remarqué que le nombre d'ovocytes en « début de gamétogenèse » augmente significativement (36.4 – 92.4 %) en même temps que le nombre d'ovocytes résiduels diminue de manière significative (44.8 – 0.0 %) de décembre à février ($P < 0.05$). Dans les autres lots on ne trouve aucun changement significatif pendant la même période.

En février, des ovocytes en « vitellogenèse » sont observés seulement dans les lots de la baie des Veys, de l'Aber Benoît et de Baden (4.0, 8.0 et 3.0 % respectivement). Dans tous les lots on s'aperçoit que le nombre d'ovocytes en « vitellogenèse » augmente significativement ($P < 0.05$) de février à avril. Nous avons remarqué que les lots qui contenaient des ovocytes en « début de gamétogenèse » en février (BV, AB et Ba) sont les mêmes lots où les ovocytes « matures » diminuent significativement de juin à juillet ($P < 0.05$). Pendant la même période, la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » et en « vitellogenèse » augmente significativement ($P < 0.05$) dans les lots de la baie des Veys (2.4 – 28 % et 18.6 – 47.6 % respectivement) et de l'Aber Benoît (0.0 – 33.2 % et 1.3 – 49.0 % respectivement). Dans les autres lots, aucun changement significatif n'a été détecté entre juin et juillet.

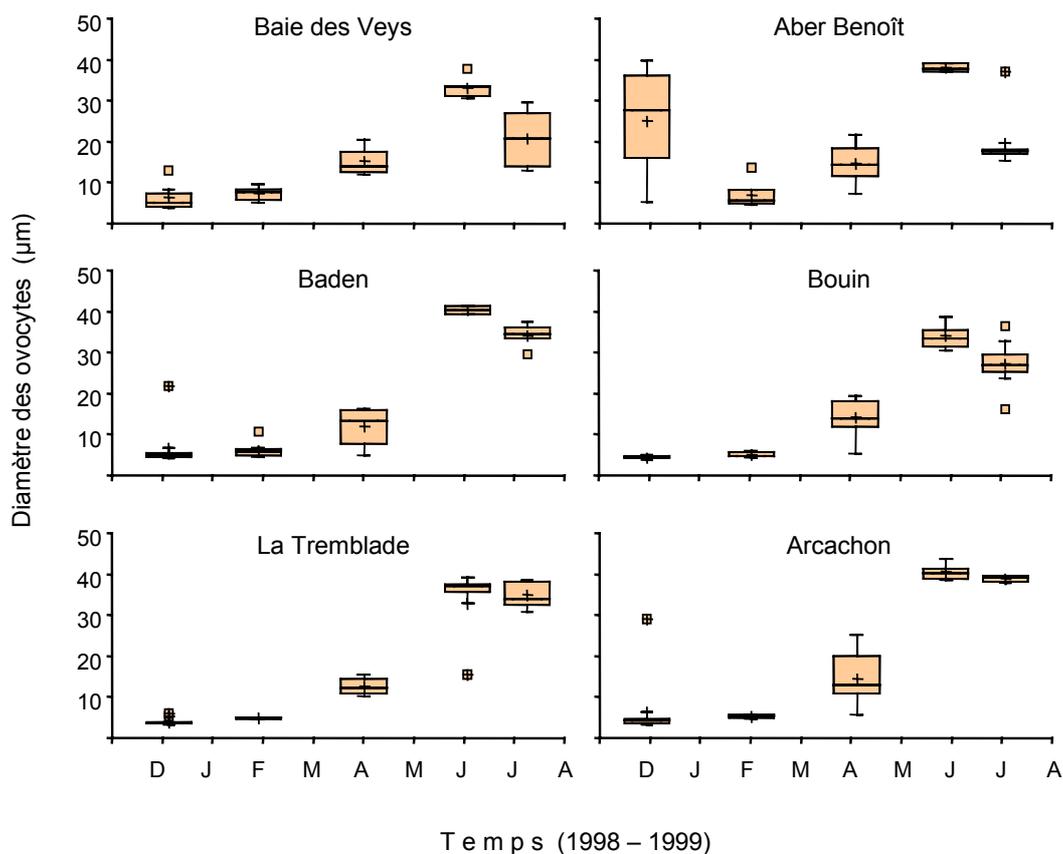


Fig. V – 1. Variations des diamètres moyens des ovocytes dans la gonade de *Crassostrea gigas* provenant de six lots de la côte atlantique française.

Spermatogénèse

La spermatogénèse n'a présenté aucun patron clair dans les lots étudiés. Chez la lot de la baie des Veys on constate la présence de mâles « matures » en décembre, et chez celle de l'Aber Benoît, en plus de mâles « matures » pendant ce mois, des gonades mâles en stade de croissance sont observées. Dans les autres lots, pendant décembre 1998 et février 1999, aucun mâle n'a été observé parmi les animaux examinés. En avril on observe des gonades mâles en stade de croissance dans toutes les lots, à l'exception des huîtres provenant de l'Aber Benoît où la présence d'animaux dans tous les stades de développement a été constaté. En juin et juillet nous avons observé uniquement des huîtres « matures » pour toutes les lots (Fig. V - 2)

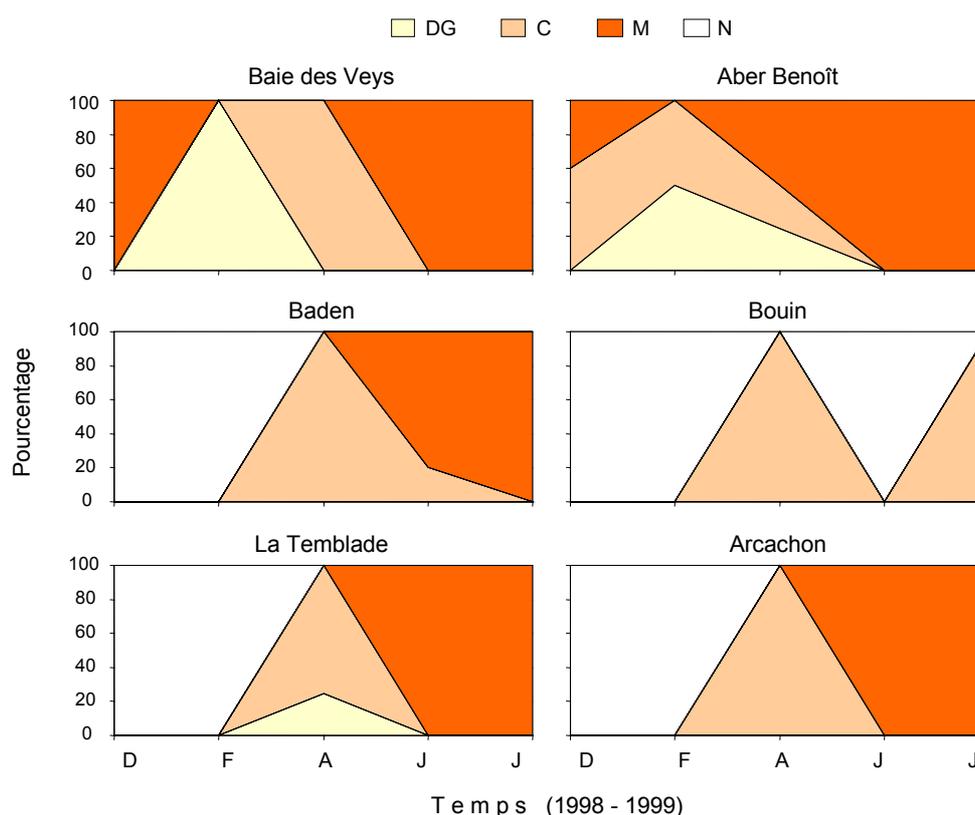


Fig. V – 2. Evolution des stades reproductifs des huîtres mâles provenant de six lots de la côte atlantique française. DG – Stade de « début de gamétogénèse », C – Stade de « croissance », M – Stade de « maturité », N – Aucun individu observé.

Conditionnements

Les résultats des trois conditionnements ; décembre 1998 – février 1999, février – avril 1999 et avril – juin 1999 sont présentés par les *Figures V – 3, V – 4 et V - 5*. Pour le lot de la baie des Veys, on observe que le nombre d'ovocytes en « vitellogenèse » augmente significativement dans le premier (3.0 – 18.8 %) et le deuxième conditionnement (3.7 – 30.7 %), et que durant la dernière expérience cette catégorie ovocytaire diminue significativement (57.0 – 7.0 %) ($P < 0.05$). La proportion d'ovocytes « matures » augmente significativement ($P < 0.05$) dans toutes les expériences de conditionnement pour ce même lot. Dans le lot de l'Aber Benoît les ovocytes résiduels détectés au début du conditionnement ne sont plus observés à la fin de l'expérience. Pour ce lot il n'y a pas d'évolution significative de la proportion d'ovocytes en « vitellogenèse » mais le nombre d'ovocytes « matures » augmente significativement pendant les trois conditionnements ($P < 0.05$). Nous avons remarqué la même évolution ovocytaire pour les lots de Baden et Bouin que celle des huîtres de l'Aber Benoît, sauf pour la deuxième expérience où le nombre d'ovocytes en « vitellogenèse » a augmenté significativement (2.9 – 18.0 % pour Baden et 0.0 – 27.2 % pour Bouin) ($P < 0.05$). Le taux d'ovocytes en « vitellogenèse » augmente également pendant le deuxième conditionnement chez les huîtres de La Tremblade (0.0 - 37.2 %), mais le nombre d'ovocytes « matures » n'augmente significativement que pendant la deuxième (0.0 – 41.5 %) et la troisième (0.0 – 89.7 %) expérience ($P < 0.05$). Enfin, le lot d'Arcachon montre une augmentation du nombre d'ovocytes en « vitellogenèse » pendant le premier (0.0 – 39.5 %) et le deuxième (0.0 – 21.8 %) conditionnement tandis que le taux d'ovocytes « matures » augmente de manière significative seulement durant la dernière expérience (7.0 – 88.2 %) ($P < 0.05$).

Il résulte de l'analyse de variance à deux facteurs que dans les trois catégories ovocytaires examinées (ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures »), l'effet de l'origine des lots n'est significatif dans aucune expérience ($P < 0.05$). En revanche, l'effet du conditionnement est évident pour les ovocytes en « début de

gamétogénèse » dont la proportion augmente significativement ($P < 0.05$) dans la première et deuxième expérience. Concernant les ovocytes en « vitellogénèse », aucun effet significatif du conditionnement n'est détecté pendant les trois expériences. Finalement, l'effet du conditionnement sur les ovocytes « matures » n'est observé que durant la deuxième expérience où leur nombre augmente significativement ($P < 0.05$) (Tableau V – 1).

Tableau V - 1. Résultats de l'analyse de variance multiple pour « l'arc – sinus racine de x » du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogénèse », en « vitellogénèse » et « matures » en fonction de 2 variables ; lot et conditionnement.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Début de gamétogénèse					
Lot	1954,1	5	390,8	2,11	0,0679
Conditionnement	31551,4	4	7887,8	42,6	0,0000
Interactions					
Lot – Conditionnement	16212,2	20	810,6	4,38	0,0000
Résidus	23483,2	127	198,6		
Total	73685,2	156			
Vitellogénèse					
Lot	1679,5	5	335,9	2,82	0,0688
Conditionnement	4753,2	4	1188,3	9,99	0,0000
Interactions					
Lot – Conditionnement	8284,3	20	414,2	3,48	0,0000
Résidus	15107,7	127	118,9		
Total	31019,6	156			
Mature					
Lot	1490,4	5	298,1	1,33	0,2551
Conditionnement	30312,1	4	7578,1	33,84	0,0000
Interactions					
Lot – Conditionnement	26677,1	20	1333,9	5,96	0,0000
Résidus	28436,5	127	223,9		
Total	88254,7	156			

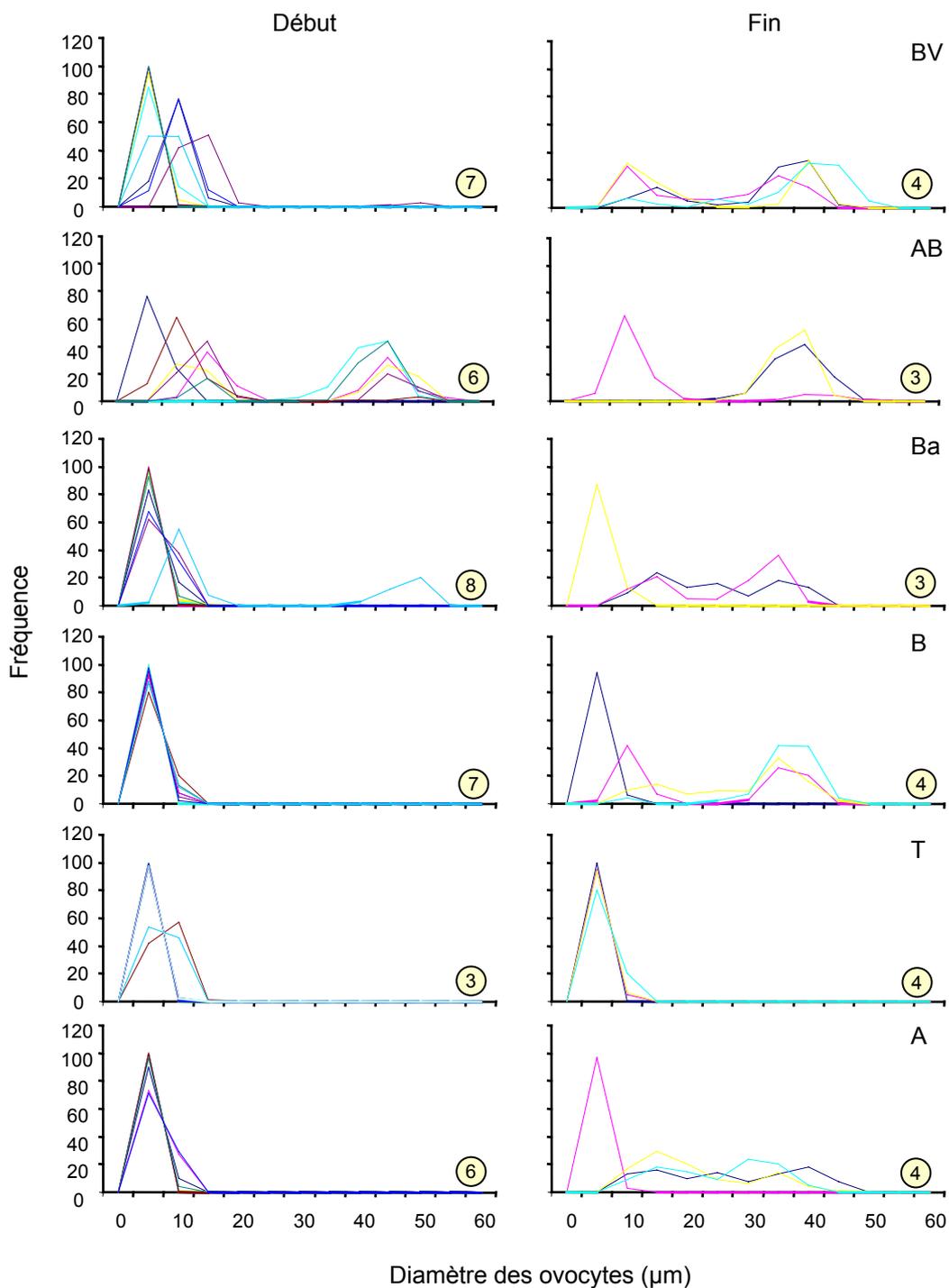


Fig. V – 3. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de six lots de la côte atlantique française après conditionnement en laboratoire (7 décembre 1998 – 8 février 1999). Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon

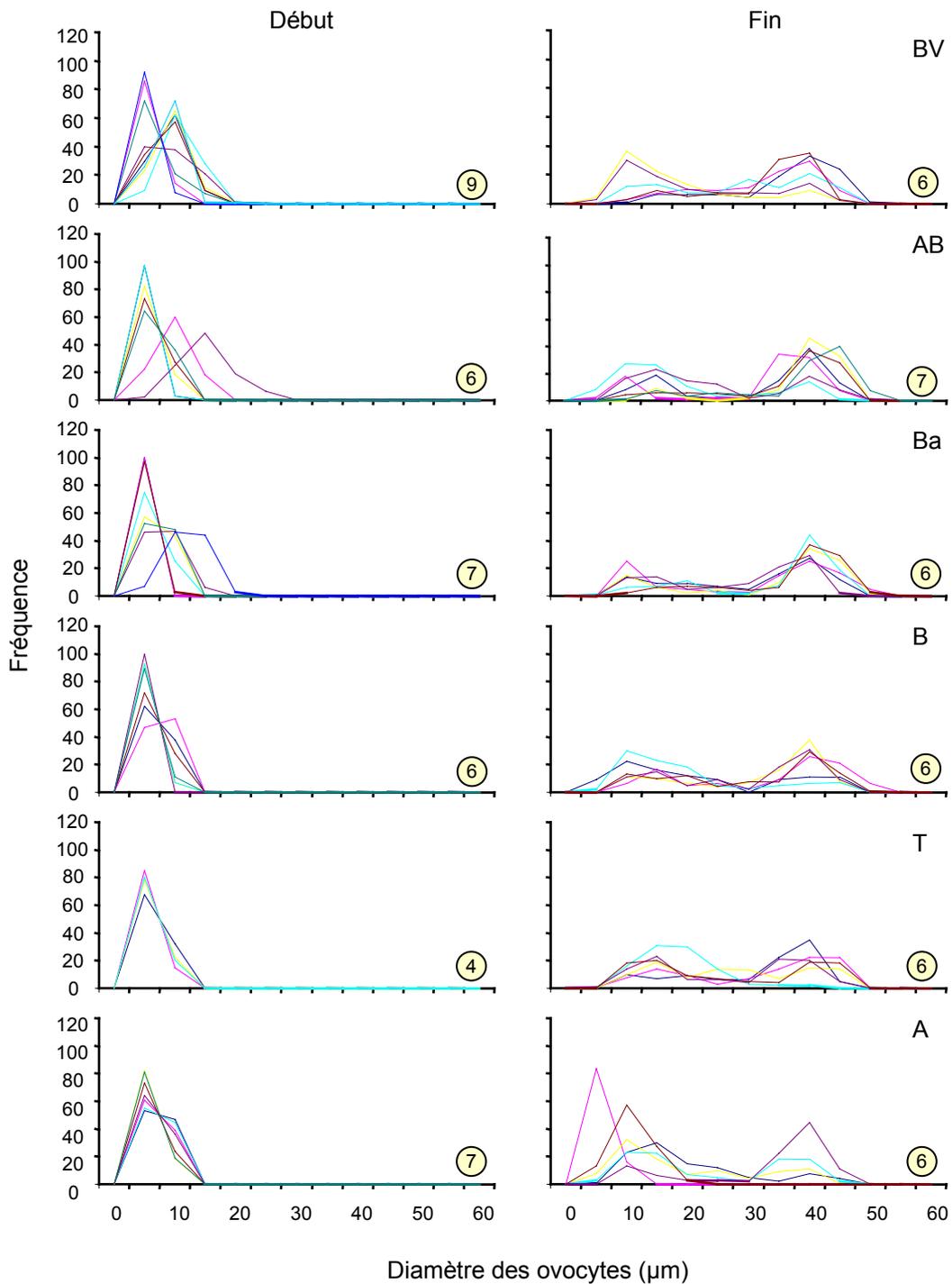


Fig. V – 4. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de six lots de la côte atlantique française après conditionnement en laboratoire (8 février – 20 avril 1999). Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A – Arcachon.

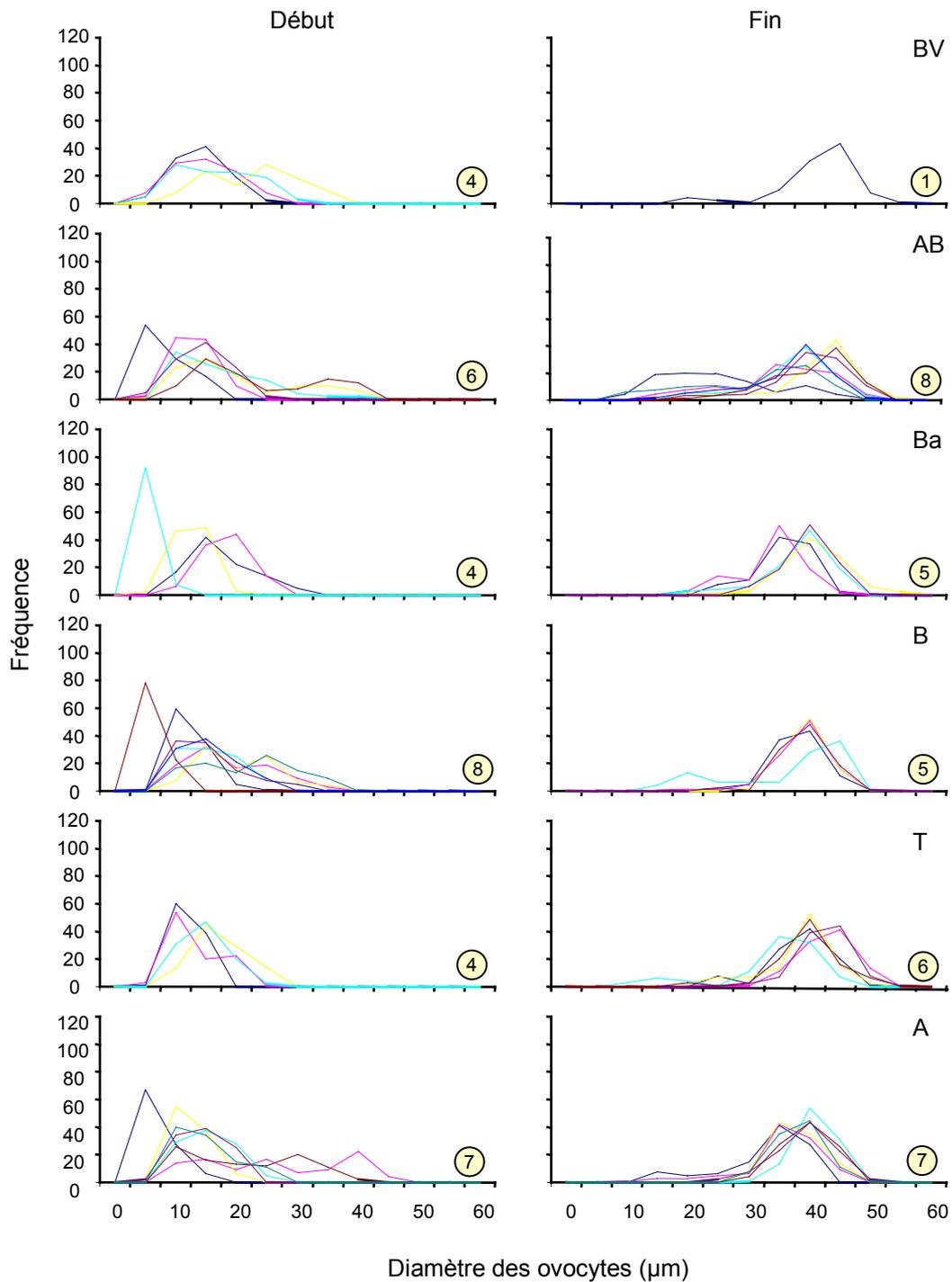


Fig. V – 5. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de six lots de la côte atlantique française après conditionnement en laboratoire (20 avril – 17 juin 1999). Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le total d'individus mesurés. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A – Arcachon.

Indices

Les résultats concernant l'indice Walne – Mann (IWM) pour les expériences de conditionnement sont présentés par la *Figure V - 6*. Nous observons que les valeurs de l'indice augmentent significativement ($P < 0.05$) à la fin du conditionnement dans les lots de Bouin (troisième expérience), La Tremblade (deuxième et troisième expérience) et Arcachon (première et dernière expérience). Pour les autres lots il n'y a pas de différence significatives des valeurs de l'indice entre le début et la fin des conditionnements.

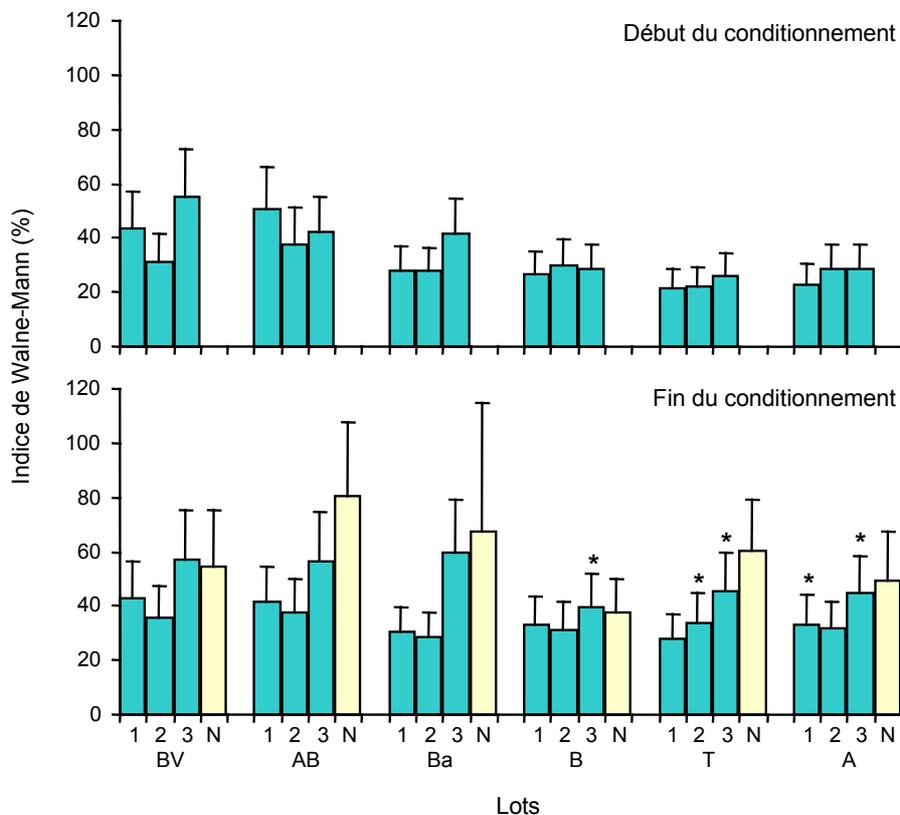


Fig. V – 6. Valeurs de l'indice Walne – Mann pour *Crassostrea gigas* au début et à la fin des trois conditionnements (1, 2 et 3) pour les six lots étudiés (BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A – Arcachon). N – huîtres collectées en juillet. Le symbole * indique des différences significatives entre le début et la fin du conditionnement après le test de Kruskal - Wallis ($P < 0.05$).

Pour l'ensemble des résultats, l'analyse de variance (*Tableau V – 2*) montre que les valeurs de l'indice Walne – Mann durant le troisième conditionnement sont significativement plus élevées que celles trouvées dans les deux expériences précédentes, mais ces valeurs sont significativement moins élevées que celles obtenues chez les huîtres collectées en juillet ($P < 0.05$). L'effet du lot est observé dans les animaux provenant de l'Aber Benoît qui montrent des valeurs de l'indice significativement plus élevées par comparaison avec les autres lots à l'exception des huîtres de la baie des Veys ($P < 0.05$) (*Fig. V – 7*).

Tableau V - 2. Résultats de l'analyse de variance multiple pour « l'arc – sinus racine de x » du pourcentage de l'indice Walne - Mann en fonction de 2 variables ; conditionnement et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Conditionnement	7573,3	3	2524,5	61,1	0,0000
Lot	3150,8	5	630,2	15,3	0,0000
Interactions					
Conditionnement - Lot	2861,9	15	190,7	4,62	0,0000
Résidus	8296,5	201	41,27		
Total	22292,9	224			

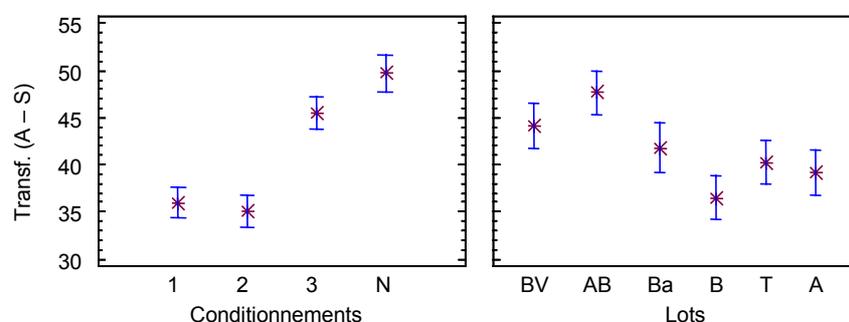


Fig. V – 7. Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs ($P < 0.05$) permettant de montrer l'effet des conditionnements (1, 2 et 3 ; N – huîtres collectées en juillet), et du site d'origine (lots) sur l'indice Walne – Mann. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon. Transf. (A – S) - transformation « arc – sinus racine de x ».

Production d'ovocytes

La production de gamètes a été évaluée pour des huîtres nourries, non nourries et aussi pour des individus récoltés sur des sites naturels le 7 juillet 99.

Huîtres nourries. La production des gamètes à la fin de chaque conditionnement et celle des huîtres provenant de gisements naturels sont représentées par la Figure V - 8. Les huîtres qui ont produit la plus grande quantité de gamètes, en considérant les trois conditionnements, sont par ordre décroissant, celles de l'Aber Benoît, de Baden et de la baie des Veys. La plus faible production de gamètes est fournie par les huîtres d'Arcachon, de La Tremblade, et de Bouin. L'analyse statistique indique que la production de gamètes au cours des trois conditionnements augmente significativement ($P < 0.05$) jusqu'à la troisième expérience dans la plupart des lots. Il n'y a pas de différence significative pour les lots de la baie des Veys, de Bouin et de La Tremblade entre le nombre de gamètes produits durant le dernier conditionnement et celui obtenu à partir des huîtres provenant des parcs de culture ($P < 0.05$) (Fig. V - 9).

Une analyse de variance à deux facteurs a été réalisée pour observer l'effet du conditionnement et du site d'origine sur la production de gamètes (*Tableau V - 3*). Concernant le conditionnement, la production de gamètes augmente significativement ($P < 0.05$) avec le temps jusqu'à la troisième expérience qui ne présente pas de différences significatives avec les huîtres provenant des parcs de culture. Concernant l'effet du site d'origine, la plus grande quantité de gamètes est produite par les huîtres de l'Aber Benoît, puis celles de la baie des Veys et de Baden. La plus faible production est celle des individus de Bouin, de La Tremblade et d'Arcachon (*Fig. V - 10*).

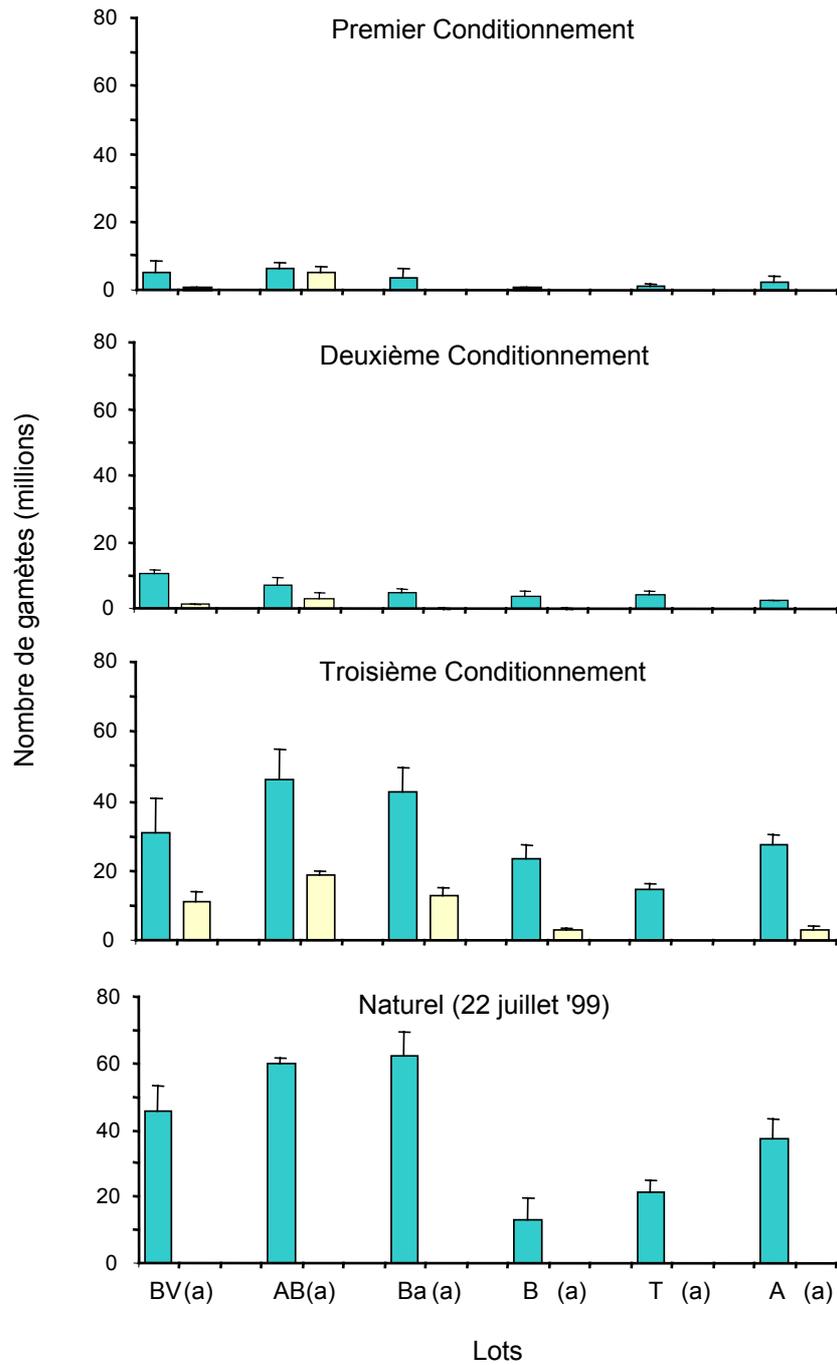


Fig. V – 8. Production d’ovocytes par les huîtres nourries et non nourries (a) à la fin de chaque conditionnement et par les huîtres collectées en juillet. Valeur moyenne (\pm erreur standard) ; BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A – Arcachon.

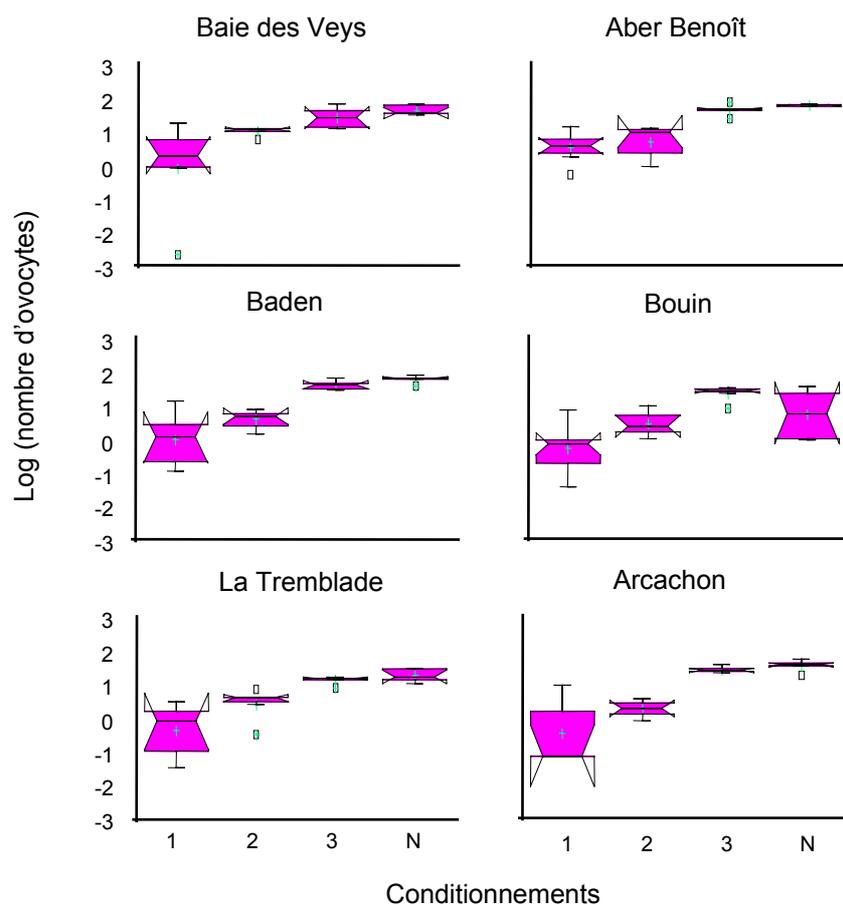


Fig. V – 9. Production d'ovocytes par lot à la fin de chaque conditionnement pour les huîtres nourries (1, 2 et 3 ; N – huîtres collectées en juillet).

Tableau V - 3. Résultats de l'analyse de variance multiple pour la production d'ovocytes des huîtres nourries en fonction de 2 variables ; conditionnement et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Conditionnement	55,8	3	18,61	63,45	0,0000
Lot	6,34	5	1,26	4,33	0,0013
Interactions					
Conditionnement - Lot	4,08	15	0,27	0,93	0,5363
Résidus	30,5	104	0,2933		
Total	97,9	127			

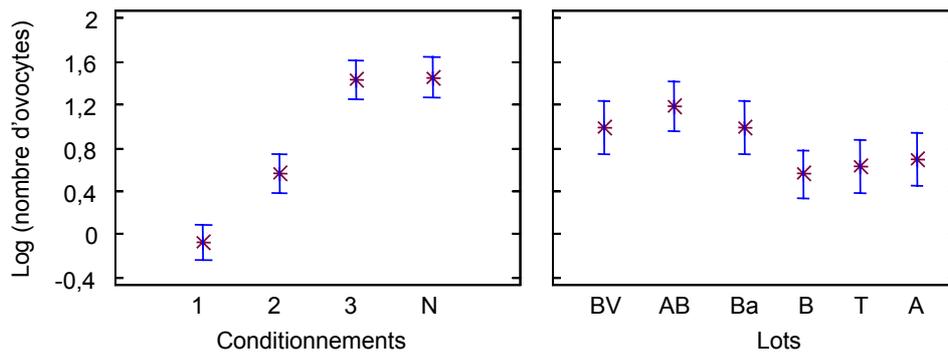


Fig. V – 10. Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs ($P < 0.05$) permettant de montrer l'effet des conditionnements (1, 2 et 3 ; N – huîtres collectées en juillet) et du site d'origine (lots) sur la production d'ovocytes des huîtres nourries. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

Huîtres non nourries. Pendant le premier conditionnement les seuls animaux ayant produit des gamètes sont ceux qui proviennent des lots de l'Aber Benoît et de la baie des Veys. Une production significativement plus importante d'ovocytes a été assurée par les huîtres de l'Aber Benoît ($P < 0.05$). Au cours du deuxième conditionnement, les huîtres qui produisent le plus de gamètes sont celles de l'Aber Benoît et de la baie des Veys, puis suivent celles d'Arcachon et La Tremblade. Entre les huîtres de l'Aber Benoît et celles de la baie des Veys il n'y a pas de différences significatives concernant le nombre de gamètes émis (gamètes matures comptés après scarification) ($P < 0.05$). La plus faible production est celle des individus de Baden et de Bouin. Finalement, durant la troisième expérience, la plus grande production de gamètes provient du lot de l'Aber Benoît qui présente des différences significatives par rapport à toutes les autres lots ($P < 0.05$). Les huîtres provenant de La Tremblade n'ont pas émis de gamètes pendant les expériences de conditionnement. Le nombre de gamètes augmente significativement avec le temps dans toutes les lots, sauf durant le premier et le deuxième conditionnement pour les huîtres provenant de l'Aber Benoît ($P < 0.05$) (Fig. V - 11). L'analyse de variance à deux facteurs met en évidence l'effet du temps et des lots sur la production de gamètes pour les individus non nourris (Tableau

V- 4). En fonction du temps, des différences significatives de conditionnements sont observées jusqu'à la dernière expérience qui permet d'obtenir la plus grande production de gamètes. Concernant l'effet du site d'origine, la plus grande production de gamètes est constatée chez les huîtres de l'Aber Benoît et d'Arcachon (Fig. V - 12).

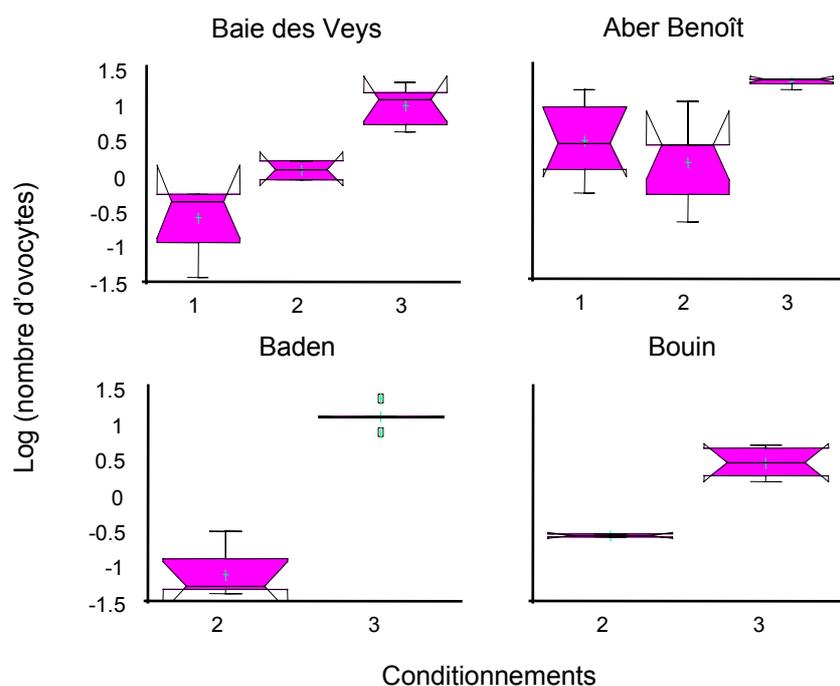


Fig. V – 11. Production d'ovocytes (logarithme du nombre d'ovocytes) par lot à la fin de chaque conditionnement pour les huîtres non nourries (1, 2 et 3).

Tableau V - 4. Résultats de l'analyse de variance multiple pour la production d'ovocytes des huîtres non nourries en fonction de 2 variables ; conditionnement et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Conditionnement	18,13	2	9,07	42,55	0,0000
Lot	6,64	4	1,66	7,79	0,0001
Résidus	9,37	44	0,213		
Total	35,02	50			

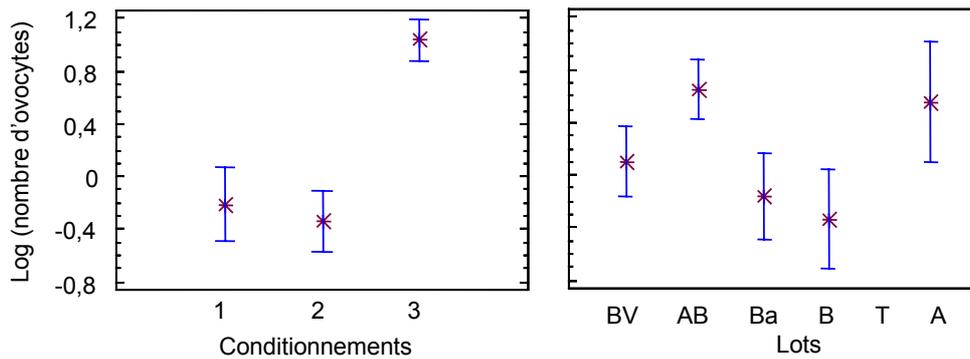


Fig. V – 12. Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs ($P < 0.05$) mettant en évidence l'effet des conditionnements (1, 2 et 3) et du site d'origine (lots) sur la production d'ovocytes des huîtres non nourries. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

Comparaison entre les huîtres nourries et non nourries. Une comparaison du nombre de gamètes émis est faite entre les huîtres nourries et celles laissées à jeun pendant chaque conditionnement. Au cours de la première expérience de conditionnement, on ne note pas de différences significatives entre les huîtres de l'Aber Benoît non nourries et le reste des lots nourris ($P < 0.05$). Dans le deuxième conditionnement, même si la production de gamètes commence à diminuer significativement chez les huîtres privées de nourriture, il n'y a pas de différences significatives entre les animaux de l'Aber Benoît issus des deux conditions expérimentales ($P < 0.05$). Finalement, durant le troisième conditionnement les huîtres de la baie des Veys nourries produisent la même quantité de gamètes que les animaux non nourris de l'Aber Benoît et de Baden (Fig. V - 13).

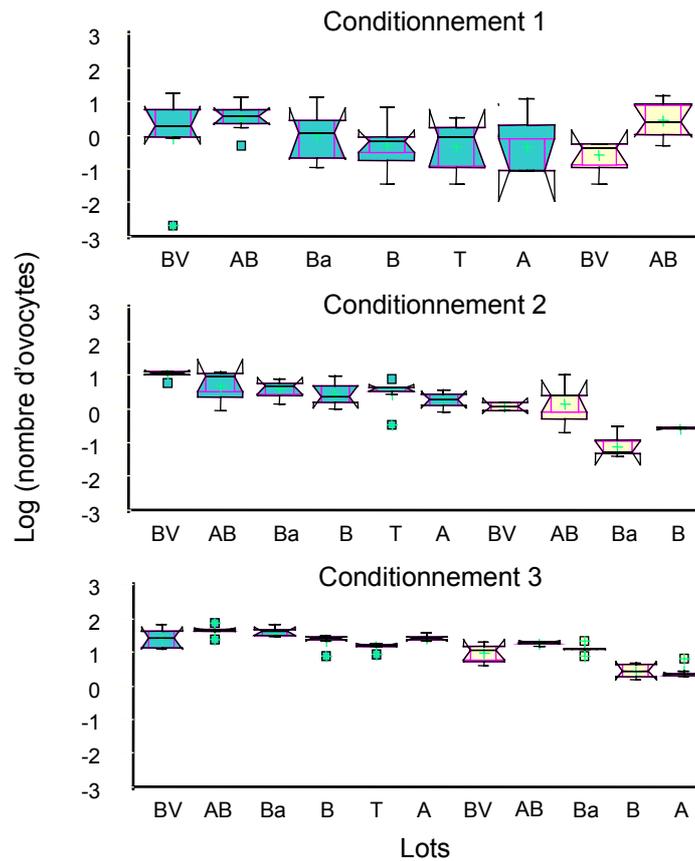


Fig. V – 13. Comparaison du nombre d’ovocytes produits entre les huîtres nourries (en vert) et non nourries (en jaune). BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

Taux d’éclosion

L’analyse de variance à deux facteurs ne montre pas un effet du temps ou du site d’origine sur les taux d’éclosion des huîtres nourries et non nourries ($P < 0.05$). Les taux d’éclosion pour les huîtres nourries et non nourries pendant les conditionnements et pour les animaux provenant les parcs de culture sont présentés sur la *Figure V - 14*. Au cours du premier conditionnement, le plus grand pourcentage d’éclosion est attribué aux animaux de la baie des Veys, 80 %, tandis que les plus bas correspondent aux lots de l’Aber Benoît et de Baden, 28 et 22 % respectivement. Lors de la deuxième expérience, le lot de Bouin présente le pourcentage le plus haut, 90 %, et ce sont les huîtres de La Tremblade qui présentent le

plus bas, 51 %. Concernant le troisième conditionnement et les résultats obtenus sur les lots provenant des parcs d'élevage, on trouve un taux d'éclosion relativement homogène, voisin de 60 %, pour tous les lots. Quant aux huîtres non nourries, pour cause de problèmes techniques nous n'avons pas pu déterminer le taux d'éclosion lors du deuxième conditionnement et en conséquence l'élevage larvaire n'a pas été réalisé. Il n'existe pas de différences significatives ($P < 0.05$) entre les huîtres nourries et les non nourries pendant la première et troisième expérience de conditionnement. On observe que les taux d'éclosion des lots de la baie des Veys et de l'Aber Benoît sont similaires que les individus soient nourris ou non. Pour les animaux de l'Aber Benoît, le taux d'éclosion est plus élevé pour les non nourris, 40.8 %, que pour les nourries, 31 %, lors du premier conditionnement. Dans les lots de Baden, de Bouin et d'Arcachon les taux d'éclosion sont inférieurs pour les huîtres non nourries.

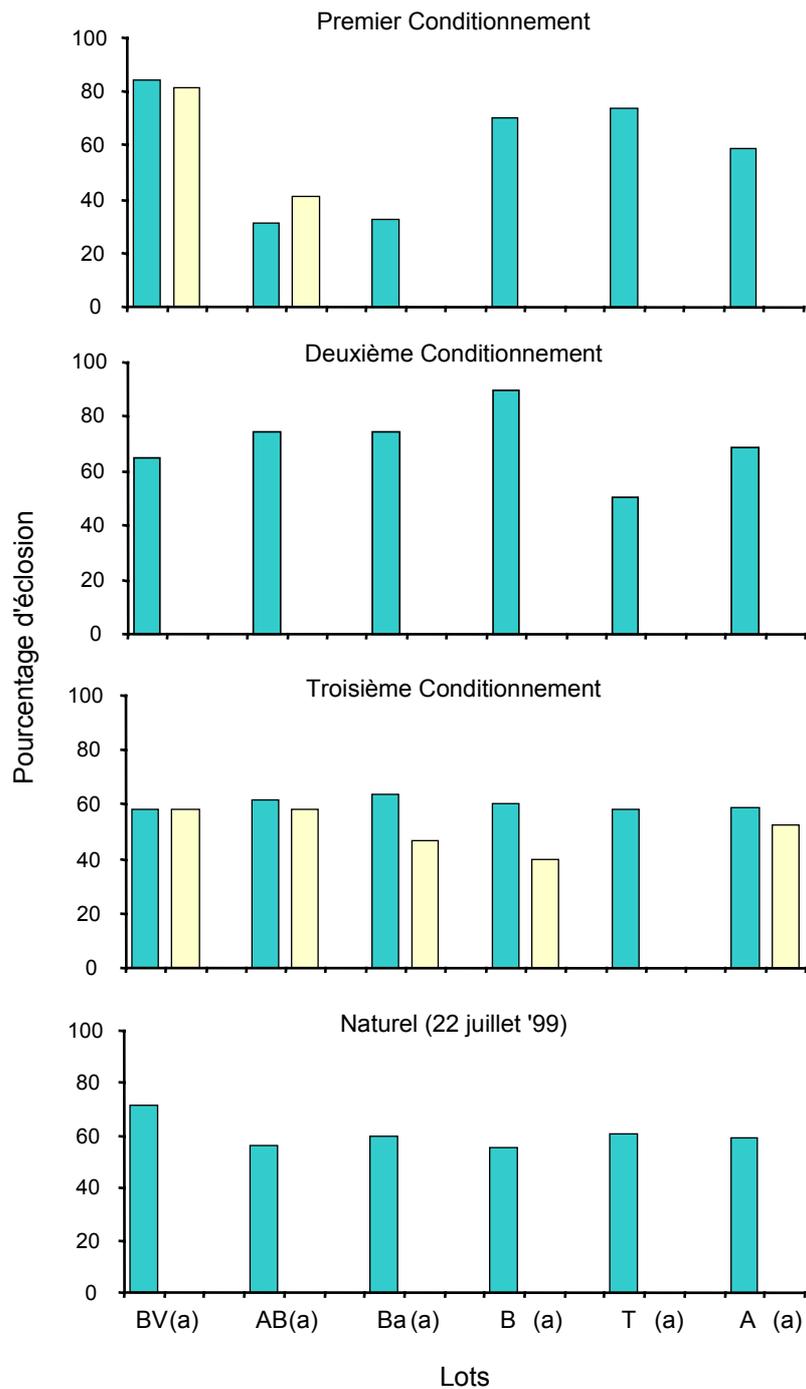


Fig. V – 14. Taux d'éclosion pour les huîtres nourries et non nourries (a) lors des conditionnements et pour les huîtres collectées en juillet. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

Elevage larvaire

Elevage larvaire dans le cas des huîtres nourries. La croissance des larves issues des huîtres nourries est présentée dans la *Figure V – 15*. L'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) montre que la taille des larves ne présente pas de différences significatives entre la première et la deuxième expérience de conditionnement (*Tableau V – 5*). La taille augmente de façon significative du deuxième au troisième conditionnement dans toutes les lots, et on n'a pas trouvé de différences significatives entre la taille des larves de la dernière expérience de conditionnement et celle des larves provenant des huîtres collectées en juillet. Nous avons également remarqué que qu'il n'y pas de différences significatives de la taille des larves entre les lots (*Fig. V - 16*).

Tableau V - 5. Résultats de l'analyse de variance multiple pour l'élevage larvaire des huîtres nourries pendant le conditionnement en fonction de 3 variables ; conditionnement, jour et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Conditionnement	26813,8	3	8937,9	97,5	0,0000
Jour	161190	2	80594,9	879,5	0,0000
Lot	159,4	5	31,9	0,35	0,8793
Interactions					
Conditionnement – Jour	18535,3	6	3089,2	33,71	0,0000
Conditionnement – Lot	657,8	15	43,8	0,48	0,9328
Jour – Lot	311,6	10	31,15	0,34	0,9621
Résidus	2657,3	29	91,63		
Total	210822	70			

Elevage larvaire dans le cas des huîtres non nourries. La croissance larvaire pour les huîtres non nourries est présentée dans la *Figure V – 17*. L'analyse de variance à trois facteurs (*Tableau V – 6* ; $P < 0.05$) montre que la taille des larves est significativement différente entre le premier et le troisième conditionnement, et que celle-ci augmente avec le temps (jours 2, 9 et 16 d'élevage). Enfin, il n'existe des différences significatives dans la taille des larves entre les différentes lots (*Fig. V – 18*).

Tableau V - 6. Résultats de l'analyse de variance multiple pour l'élevage larvaire des huîtres non nourries pendant le conditionnement en fonction de 3 variables ; conditionnement, jour et lot.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Conditionnement	2607,8	1	2607,8	10,5	0,0065
Jour	65668,5	2	32834,3	131,7	0,0000
Lot	386,1	4	96,52	0,39	0,8140
Résidus	3239,7	13	249,2		
Total	73172,9	20			

Comparaison entre la taille des larves des huîtres nourries et non nourries. Nous avons comparé la taille des larves issues des huîtres nourries et des non nourries pour le dernier jour d'élevage (jour 16). La taille larves provenant des huîtres à jeun du premier conditionnement n'est significativement pas différente ($P < 0.05$) de la taille des larves issues des autres expériences de conditionnement avec nourriture, mais elle est significativement inférieure à celle provenant des huîtres privées de nourriture dans la troisième expérience (Fig. V - 19).

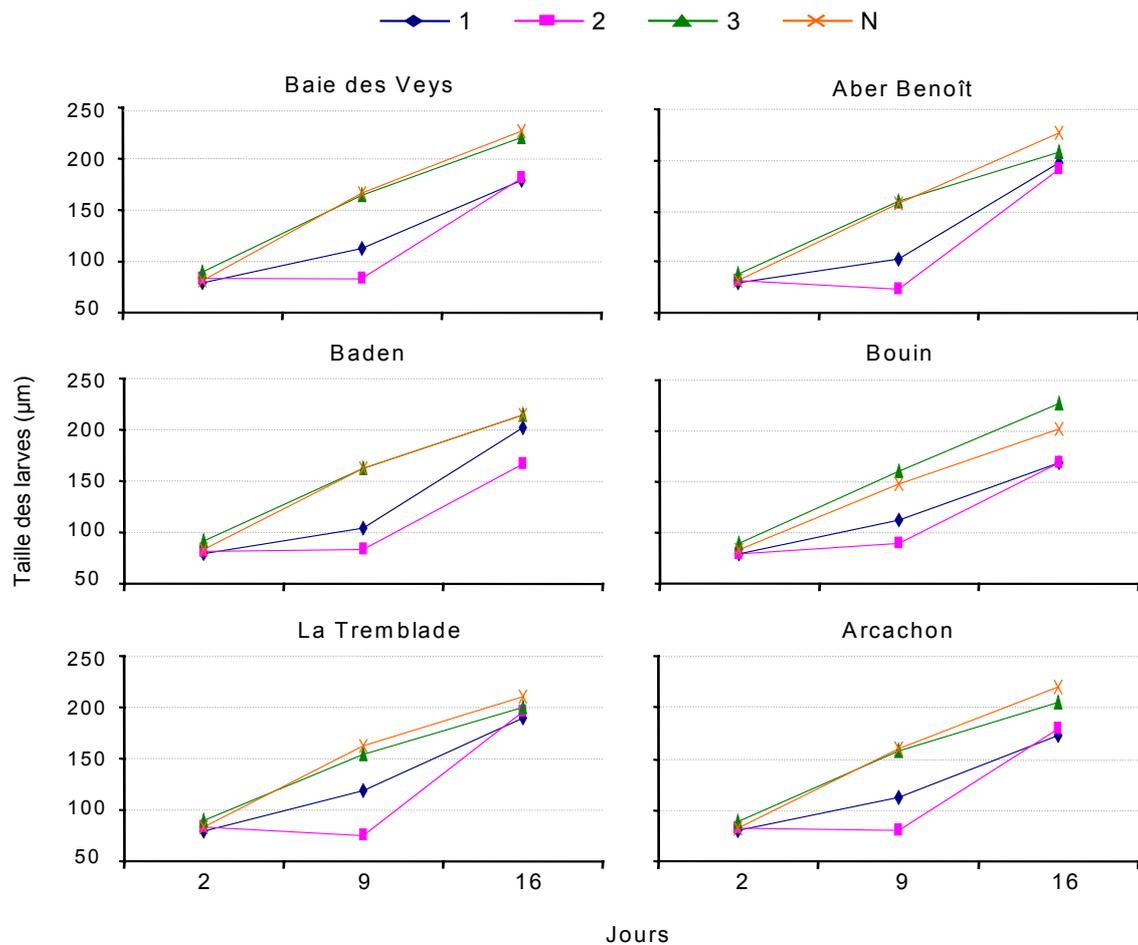


Fig. V – 15. Croissance des larves de *Crassostrea gigas* provenant des huîtres nourries pendant le conditionnement. Les larves ont été élevées jusqu'au 16^{ème} jour. Conditionnements (1, 2 et 3), N – huîtres collectées en juillet.

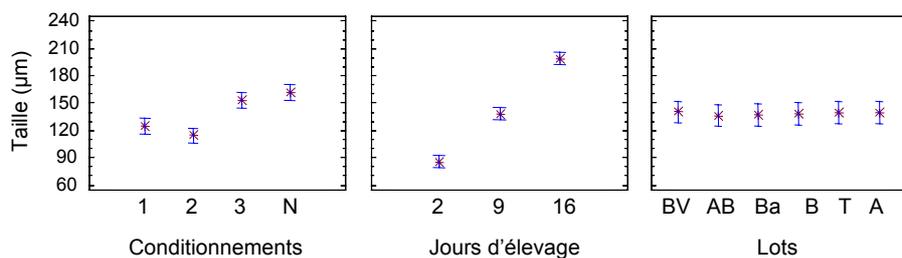


Fig. V – 16. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) mettant en évidence l'effet des conditionnements (1, 2 et 3 ; N – huîtres collectées en juillet), des jours d'élevage (2, 9, 16) et du site d'origine (lots nourris) sur l'élevage larvaire. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

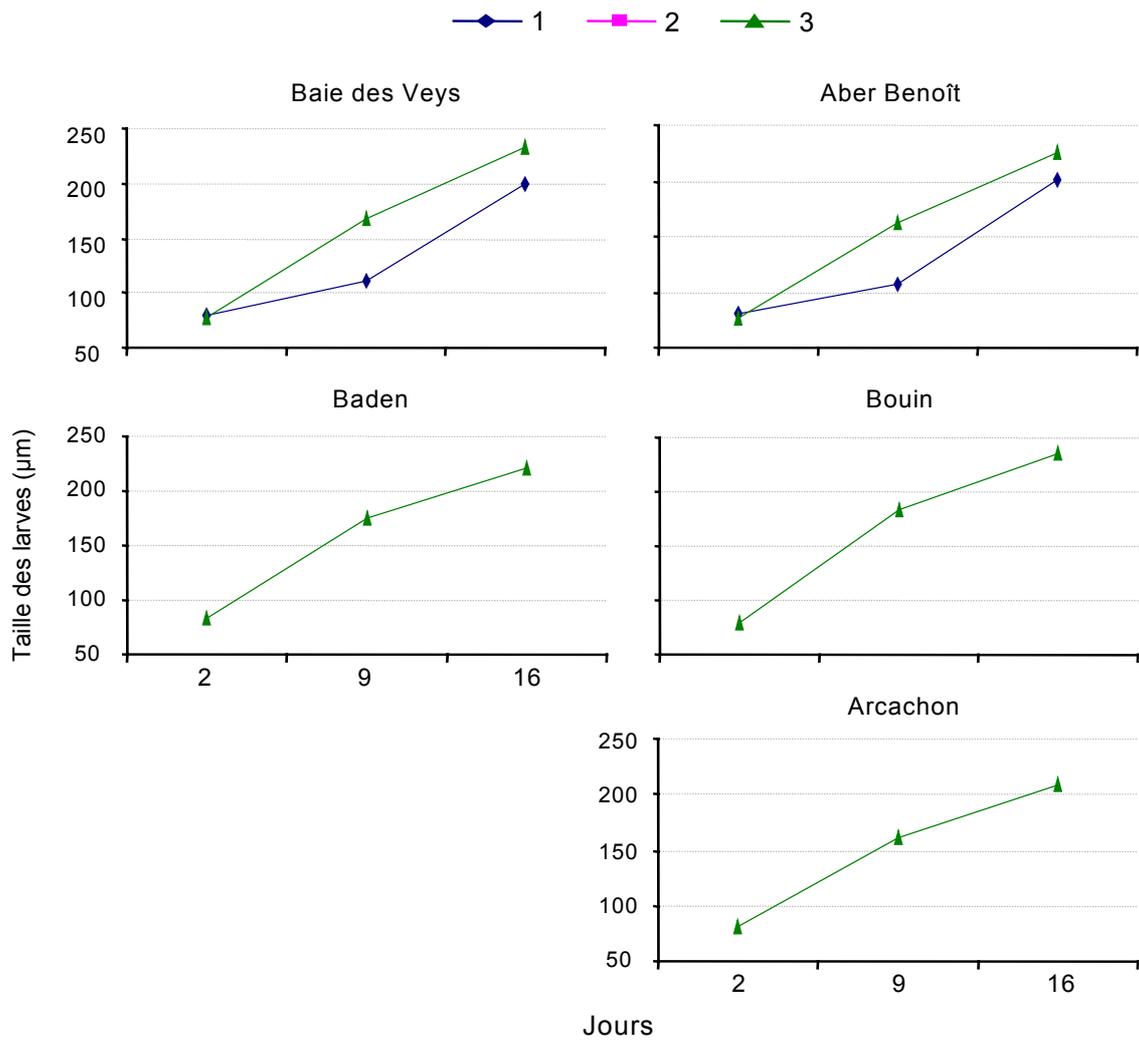


Fig. V – 17. Croissance des larves de *Crassostrea gigas* provenant des huîtres non nourries pendant le conditionnement. Les larves ont été élevées jusqu'au 16^{ème} jour. Conditionnements (1, 2 et 3).

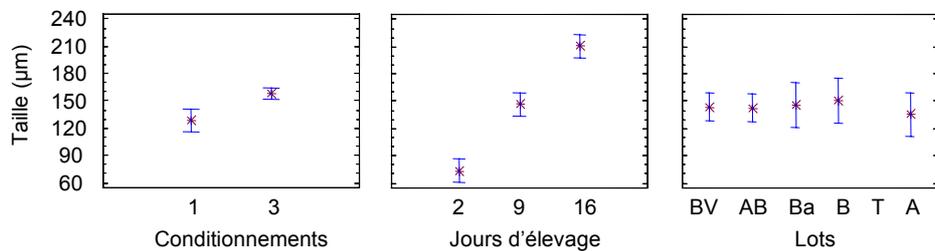


Fig. V – 18. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) mettant en évidence l'effet des conditionnements (1 et 3), des jours d'élevage (2, 9, 16) et du site d'origine (lots non nourris) sur l'élevage larvaire. BV – Baie des Veys, AB – Aber Benoît, Ba – Baden, B – Bouin, T – La Tremblade et A - Arcachon.

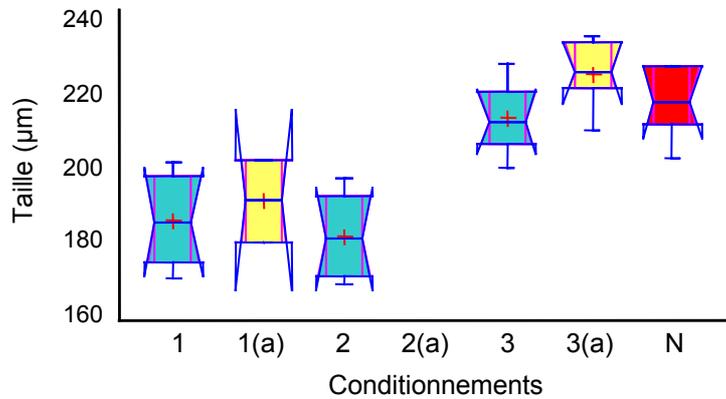


Fig. V – 19. Comparaison de la taille des larves, pour le dernier jour d'élevage (jour 16), provenant d'huîtres nourries et non nourries (a) pendant le conditionnement. N – huîtres collectées en juillet.

Discussion

Les résultats obtenus sur le développement gamétique chez *C. gigas* sont similaires à ceux rapportés par Lango-Reynoso *et al.* (2000) pour deux populations en Bretagne et une autre de Marennes-Oléron. Nous avons observé que l'évolution de la gamétogenèse s'est déroulée de manière similaire dans tous les lots pendant la période étudiée (décembre 1998 à juillet 1999). Les ovocytes primaires sont présents de décembre à février. Cependant, nous avons détecté dans le lot de l'Aber Benoît une proportion importante d'ovocytes résiduels, 45 %, en décembre, qui n'est plus observée en février. La présence d'ovocytes résiduels s'explique par la ponte partielle des huîtres sur ce site avec une résorption des gamètes dans la gonade qui se déroule très lentement (septembre – janvier) (Chávez-Villalba *et al.*, 2001a). Les observations histologiques montrent que les huîtres provenant des lots de Normandie et Bretagne (baie des Veys, Aber Benoît et Baden) présentent des ovocytes en

« vitellogénèse » en février. Une croissance ovocytaire a été observée de février à juin dans tous les groupes d'huîtres, et le stade de maturité a été atteint à partir de juin pendant lequel le pourcentage d'ovocytes « matures » dans la gonade des huîtres a été de 75 %. Il est évident, à l'observation des coupes histologiques, que les huîtres de la baie des Veys, de l'Aber Benoît et de Baden ont pondu partiellement entre juin et juillet puisque la proportion d'ovocytes « matures » a diminué respectivement jusqu'à 25, 18 et 52 %. De plus, nous avons détecté, dans ces lots, pendant la même période, la présence d'ovocytes en « début de gamétogenèse » et en « vitellogénèse », ce qui indique le développement d'une nouvelle génération d'ovocytes dans la gonade de ces animaux. Par contre la proportion d'ovocytes « matures » a progressé jusqu'à près de 80 % en juillet dans les lots de Bouin, La Tremblade et Arcachon. Nous avons constaté que les huîtres provenant des sites les plus au nord initient leur croissance gonadique, atteignent le stade développement gamétique maximal, et commencent à pondre un mois plus tôt que les huîtres issues de Marennes-Oléron (Lango-Reynoso *et al.*, 2000). Les résultats de cette expérience confirment ces observations. Les différences détectées entre les lots du nord et du sud concernant le temps où le début de la gamétogenèse et l'émission de gamètes sont observés, ont été visibles pendant le déroulement des expériences de conditionnement. Les résultats révèlent que les meilleures performances en conditions de laboratoire sont dues aux huîtres des lots du nord, en particulier de la baie des Veys et de l'Aber Benoît. Ces animaux présentent les valeurs les plus élevées de l'indice de Walne – Mann, ont les proportions d'ovocytes « matures » les plus importantes pendant les trois conditionnements, et produisent plus d'ovocytes que les autres lots dans toutes les expériences d'obtention de gamètes. En outre, les huîtres de la baie des Veys et de l'Aber Benoît maintenues à jeun pendant les conditionnements ont été capables de produire des ovocytes donnant des larves viables dans toutes les expériences. Ces observations témoignent de l'existence de différences au niveau environnemental entre le nord et le sud du littoral de la France qui régulent la gamétogenèse (initiation et maturation).

Les différences sur la période d'initiation et la durée du développement gonadique entre différentes populations suggèrent, en plus des différences génétiques, l'existence de facteurs du milieu naturel qui contrôlent le développement gonadique (Barber *et al.*, 1991). Nous pensons que les différences rencontrées dans cette étude ne sont pas d'origine génétique puisque toutes les huîtres ont été captées dans le bassin d'Arcachon. En conséquence, nous considérons qu'il existe une variation intraspécifique de la gamétogenèse chez *C. gigas* en France qui semble être une adaptation aux différents facteurs environnementaux propres à chaque région. Dinamani (1987) remarque que l'huître japonaise présente des réponses reproductives flexibles qui dépendent des caractéristiques de l'environnement, celles-ci provoquent des différences sur la période d'initiation et la durée de la gamétogenèse suivant les régions du monde. Il est connu que le principal facteur environnemental qui affecte le développement gonadique chez les bivalves marins est la température de l'eau (Loosanoff et Davis, 1963). Gouletquer et Héral (1997) ont signalé que le régime tempéré en France est affecté par le « gulf stream », avec une barrière biogéographique autour de la Bretagne qui limite la distribution d'espèces marines entre les régions plus froides dans le nord et les régions plus chaudes dans le sud. Le fait que les huîtres des sites du nord, acclimatées à des températures comparativement plus froides que les animaux au sud, aient commencé leur développement gonadique plus tôt dans l'année, élimine l'hypothèse de la température comme régulateur unique du développement gonadique chez *C. gigas*. Gouletquer et Héral (1997) indiquent qu'une autre différence existe entre les régions du nord et sud : la variation des conditions trophiques causées par l'effet des marées. Les cycles de marées peuvent produire une variation temporelle bien marquée de la qualité et la quantité du matériel particulaire en suspension (Pastoureaud *et al.*, 1996). En conséquence, nous supposons que les différences trouvées au cours de nos expériences proviennent de la disponibilité des réserves accumulées dans les animaux et qui dépend de la nourriture disponible dans le milieu (Thompson *et al.*, 1996). Par exemple, MacDonald et Thompson (1988) rapportent que la variation « site-spécifique » dans le développement gonadique chez *Placopecten magellanicus* est due à une adaptation aux

variations locales des paramètres de l'environnement, dont en particulier la disponibilité en nourriture.

Les périodes d'accumulation de réserves et de production de gamètes sont temporellement séparées chez les espèces des régions tempérées (Emmett *et al.*, 1987 ; Thompson et MacDonald, 1990). Berthelin *et al.* (2000) ont montré que les réserves chez *C. gigas* sont constituées pendant l'automne et l'hiver et sont utilisées ultérieurement pour la gamétogenèse. Ainsi, les résultats détectés pour les lots du nord semblent suggérer qu'il existe une disponibilité plus grande de nourriture qui favorise l'accumulation de nutriments dans les huîtres de ces sites. Ces observations sont confortées si on considère que la région de la baie des Veys est un écosystème de grande production trophique (Gouletquer *et al.*, 1996), et que les huîtres de l'Aber Benoît présentent les valeurs de rendement les plus élevées parmi toutes les populations retenues dans le programme REMORA (réseau de suivi de la croissance de l'huître creuse sur les côtes françaises) (Goyard, 1996 et 1997). Les huîtres de Baden (zone de transition entre les lots du nord et sud) présentent des valeurs de qualité et de rendement biologique moyennes (programme REMORA). Par contre les huîtres de Bouin ont un faible taux de croissance et les rendements biologiques sont bas par comparaison avec les animaux des autres régions ostréicoles françaises (Fleury *et al.*, 1999). Héral *et al.* (1986) ont mis en évidence une surcharge biologique dans le bassin de Marennes-Oléron (lot de La Tremblade) provoquée par une importante biomasse d'huîtres et autres bivalves (moules), et Pastoureaud *et al.* (1996) indiquent une faible qualité du seston pour les huîtres de cette région.

Il est intéressant de noter que les meilleures performances en conditions de laboratoire ont été détectées chez les huîtres qui font une ponte partielle dans la nature. Ropert (1999) rapporte que les huîtres de la baie des Veys ne se reproduisent pas naturellement, il existe néanmoins une émission partielle de gamètes autour de mai – juin. Nous avons détecté chez les huîtres de l'Aber Benoît une ponte incomplète (entre juin et juillet), et une résorption lente des ovocytes résiduels jusqu'en janvier (Chávez-Villalba *et al.*, 2001a). Ces observations nous permettent de penser, qu'au delà de la nourriture ambiante qui peut favoriser

l'accumulation de réserves dans les huîtres des régions du nord, il est possible de considérer le recyclage de nutriments dans la gonade (par résorption de gamètes non émis) comme un facteur régulateur de la gamétogenèse chez ces animaux. L'atrésie ovocytaire qui aboutit à la resorption des ovocytes, est un phénomène courant chez les bivalves, en particulier chez les pectinidés ; *Chlamys varia* (Lucas, 1982), *Placopecten magellanicus* (Barber *et al.*, 1988). Un type de résorption post-ponte des ovocytes résiduels est observé dans la gonade de *C. gigas* après l'émission de gamètes (Steele, 1998). Lango-Reynoso (1999) considère que l'énergie provenant des ovocytes atrétiques ou en dégénérescence est à l'origine des cellules germinales chez *C. gigas*. Beninger et Le Pennec (1991) suggèrent que la résorption des gamètes non émis est une des voies de recyclage de nutriments dans les pectinidés. Le Pennec *et al.* (1991) ont mis en évidence le catabolisme des lipides pendant le phénomène de résorption des gamètes résiduels chez *Pecten maximus*, et ces auteurs suggèrent que les produits des activités cataboliques peuvent être accumulés sous forme de glycogène. Berthelin *et al.* (2000) indiquent que le glycogène, qui représente une source principale d'énergie pendant la reproduction chez *C. gigas*, est accumulé durant l'automne et l'hiver. Cela indiquerait que les réserves de nutriments des huîtres du nord ont pu avoir été constituées à partir du recyclage des gamètes résiduels pendant la période automne – hiver, puis utilisées ultérieurement pendant la gamétogenèse. Il serait intéressant de comparer la réponse au conditionnement d'huîtres du nord ayant pondus artificiellement en juillet – août puis replacées dans le milieu naturel pendant la période automne – hiver, avec celle d'huîtres maintenues en conditions naturelles tout au long de l'année, afin de découvrir si les nutriments accumulés dans les huîtres proviennent de la nature ou du recyclage des éléments dans la gonade.

Nous avons détecté des différences en termes de production d'ovocytes qui privilégient les huîtres nourries par comparaison à celles maintenues à jeun. Robinson (1992) note également des différences substantielles concernant la production d'ovocytes entre des lots d'huîtres *C. gigas* nourries et non nourries pendant le conditionnement. Cependant dans notre étude, le taux d'éclosion des ces deux groupes d'huîtres (conditionnées avec et sans

nourriture) est tout à fait similaire, en particulier pour les individus du nord. De plus, nous avons observé qu'il n'existe pas de différences entre la croissance larvaire quelle que soient les conditions d'élevage des huîtres « mères ». Il semble que celles-ci régulent la qualité des œufs en réduisant leur nombre s'il n'y a pas de nourriture suffisante.

Les cycles des gamétogenèses des bivalves sont étroitement liés aux cycles du stockage de glycogène et à la synthèse ultérieure, *de novo*, des lipides pendant la vitellogenèse au printemps qui dépend du stock de glycogène (Gabbott, 1975). L'interruption de ces cycles, par un conditionnement artificiel à une température élevée, peut forcer le développement des ovocytes avant qu'une quantité suffisante de glycogène ait été accumulée pour la synthèse des lipides. Ainsi, les conséquences pourraient être la production de peu de gamètes avec une qualité biochimique insuffisante (Gallager et Mann, 1986). Ces observations suggèrent que le stock de réserves des huîtres non nourries permet la production d'une quantité réduite d'ovocytes, mais d'une qualité élevée. Il semble que la viabilité et la survie des larves en élevage sont directement liées à la quantité initiale de lipides au moment de l'émission des gamètes (Holland et Spencer, 1973 ; Gallager et Mann, 1986). Ainsi, il paraît que les huîtres non nourries de la baie des Veys et de l'Aber Benoît arrivent à maintenir leur stock de lipides pendant le conditionnement en raison probablement, d'une réserve élevée de glycogène qui assure non seulement la synthèse de lipides mais aussi le développement des ovocytes.

Par ailleurs, nous avons observé que la croissance des larves issues des huîtres nourries, comme celle des non nourries, est significativement inférieure pendant les deux premiers conditionnements. Bien que les résultats de Lannan et ces collaborateurs (1980) illustrent l'importance de l'époque de collecte des animaux pour être conditionnés artificiellement, les auteurs n'ont pas d'explication concernant les mécanismes qui gouvernent la qualité des œufs ou la variabilité de la survie larvaire. Cependant, Gallager et Mann (1986) notent que la croissance et la survie des larves chez *Mercenaria mercenaria* et *C. virginica* sont associées directement avec l'époque pendant laquelle les conditionnements sont initiés et leur durée. Heude-Berthelin (2000) souligne que le contenu de glycogène reste bas dans la gonade de *C. gigas* pendant le printemps, alors que les protéines et les lipides augmentent

significativement à partir de mars - avril par rapport aux premiers blooms phytoplanctoniques. Il semble que les résultats de croissance larvaire pendant l'hiver et le printemps sont dus au fait que les huîtres n'ont pas constitué totalement leur réserves durant cette période. Les résultats précédents suggèrent que l'incorporation de nutriments pendant le printemps est importante pour assurer la viabilité et la survie des larves après l'émission des gamètes.

La connaissance de l'état général des huîtres avant de les soumettre aux conditionnements expérimentaux est importante si l'on veut obtenir des gamètes dans un état de développement optimal. Les résultats de cette étude montrent que les réserves accumulées dans les huîtres de la baie des Veys et de l'Aber Benoît leur ont permis d'avoir les meilleures performances pendant les expériences de conditionnement en comparaison avec les huîtres des autres régions. Les géniteurs provenant des lots du nord peuvent être conditionnés à partir de décembre parce qu'ils arrivent au stade de maturité, 60 % d'ovocytes « matures » dans la gonade, après six semaines de conditionnement standard (Chávez-Villalba *et al.*, 2001b). La réponse de ces huîtres aux conditions artificielles peut être maintenue pendant tout le cycle gamétique, tandis que les animaux des sites du sud ne peuvent arriver au stade de maturité qu'en commençant leur conditionnement en avril. Enfin, nos résultats suggèrent qu'une utilisation d'huîtres provenant des régions du nord dans les écloséries permettrait une amélioration certaine de la production d'ovocytes et de larves en conditions contrôlées.

Conclusion

Nous avons observé que les huîtres du nord, notamment les animaux en provenance la baie des Veys et l'Aber Benoît, initient leur développement gamétogénétique plus tôt dans l'année que les huîtres situées plus au sud de la Bretagne. Ces huîtres contiennent un stock

plus important de réserves qui leur permet d'avoir les meilleures performances en laboratoire : une proportion plus élevée d'ovocytes « matures » à la fin des conditionnements, et une production plus importante d'ovocytes après scarification de la gonade. Ce stock de réserves permet aux animaux de la baie des Veys et de l'Aber Benoît, mis en conditionnement sans nourriture, de produire des ovocytes viables à la fin des conditionnements. Même si la production d'ovocytes est largement supérieure dans les huîtres nourries par comparaison avec les animaux maintenus à jeun, les taux d'éclosion sont similaires entre les deux lots d'huîtres. Il semble donc que les besoins énergétiques pour la première phase larvaire (trochophore) des huîtres non nourries sont assurés par les réserves accumulées avant le conditionnement. En conséquence, on pourrait penser que la qualité de la nourriture offerte pendant le conditionnement n'exerce pas un effet significatif sur la qualité des gamètes. De plus, la croissance des larves n'est pas différente selon la période testée, entre celle provenant des huîtres nourries et celle d'animaux non nourris. Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse que les huîtres régulent la qualité des œufs en réduisant leur nombre en condition de pauvreté de nourriture.

On pense qu'une partie importante du stock des réserves des animaux du nord provient du recyclage de nutriments dans la gonade, puisque ces huîtres présentent une ponte partielle et que les ovocytes qui restent dans la gonade sont réabsorbés au cours de la période automne – hiver. Celle-ci correspond, dans la nature, à la mise en réserves de métabolites énergétiques chez les huîtres. Enfin, si on considère que les animaux ont la même origine, les résultats de cette étude mettent en évidence la capacité d'adaptation des huîtres à leur environnement. Ces caractéristiques reflètent donc des réponses différentes des huîtres au conditionnement et cela peut avoir des implications importantes sur la production de juvéniles en éclosiers.

VI - Caractéristiques cytologiques et biochimiques de *Crassostrea gigas* en réponse à l'apport ou à la privation de nourriture pendant le conditionnement

Introduction

L'accumulation des réserves chez *C. gigas* se déroule en automne et en hiver et les premiers signes de reprise de la gamétogenèse s'observent à partir de janvier lorsque la température se trouve encore en phase décroissante (Barret *et al.*, 1999 ; Heude-Berthelin, 2000). L'influence de la nourriture et de la température sur le cycle de reproduction des bivalves a été signalée à plusieurs reprises (Dinamani, 1987 ; Ruiz *et al.*, 1992). En général, pour stimuler la croissance gonadique chez les bivalves, la présence de nourriture suffisante et une température appropriée sont nécessaires. En conditions pauvres de nourriture, le tissu de réserve peut être utilisé pour la maintenance de l'individu au lieu de la gamétogenèse, mais si une quantité minimale de réserves est accumulée dans la gonade, la vitesse de maturation de la gonade sera sous l'influence directe de la température. Cependant, même si une quantité minimale de réserves est accumulée, le développement de la gonade dans ces conditions pauvres de nourriture ne sera pas le même que dans une condition de nourriture suffisante. Sastry (1968) indique que la température a un effet inhibiteur sur l'initiation de la gamétogenèse des individus bien nourris de *Aequipecten irradians*. A 15 °C, les animaux atteignent une phase de début de gamétogenèse mais les ovocytes ne commencent à se développer qu'une fois que les individus sont transférés à une température de 20 °C. Ainsi, un développement reproductif normal exige une température minimale et une provision suffisante de nourriture (Thompson *et al.*, 1996). Mann (1979) signale que *C. gigas* commence la gamétogenèse une fois que la température dépasse

10.5 °C. Cependant, il existe des populations de bivalves où le développement des ovocytes répond, en plus de la disponibilité de nourriture, à une température minimale (seuil) site-spécifique qui peut varier selon la distribution géographique de l'espèce (Thompson *et al.*, 1996).

Les bivalves de régions tempérées montrent une saisonnalité bien prononcée concernant la synthèse, l'accumulation et l'utilisation des réserves biochimiques. Ces réserves sont accumulées pendant des périodes de grande abondance en nourriture, habituellement entre la fin de l'été et l'automne, moment au cours duquel les besoins énergétiques pour la croissance somatique et germinale ont été déjà satisfaits. Les réserves sont utilisées subséquemment pour initier la gamétogenèse et maintenir le métabolisme pendant des périodes de faible abondance en nourriture durant l'hiver. Le plus important composant de réserve est le glycogène. Chez *C. gigas*, le contenu de glycogène augmente très nettement en automne et en hiver, et à partir de janvier, le contenu commence à diminuer pour atteindre ses valeurs minimales en juin ou juillet (Deslous-Paoli *et al.*, 1982). Heude-Berthelin (2000) indique aussi que l'accumulation du glycogène dans la région de la gonade et du manteau de *C. gigas* se déroule en automne et en hiver, puisque ce composant est utilisé comme support énergétique de la gamétogenèse. Le glycogène peut être utilisé pour la synthèse des lipides, qui seront ensuite transférés vers les ovocytes en développement pendant la vitellogenèse. De cette façon, les huîtres découplent partiellement les processus d'accumulation de réserves et de production de gamètes, en permettant l'initiation de la gamétogenèse en hiver lorsque l'incorporation de nourriture est au minimum (Thompson *et al.*, 1996).

Deslous-Paoli et Héral (1988) suggèrent que le glycogène peut être utilisé en hiver lorsque des conditions défavorables de nourriture et de température sont rencontrées dans la nature. Le stress nutritionnel dû à une privation partielle ou complète de la nourriture peut altérer substantiellement la composition biochimique des bivalves (Whyte *et al.*, 1990). Les huîtres, comme d'autres espèces de mollusques, exhibent différentes séquences d'utilisation des principaux constituants biochimiques si elles sont totalement privées de nourriture.

L'accumulation et la déplétion des réserves stockées dans un bivalve dépendent du stade de développement gonadal, des influences environnementales sur les activités métaboliques et de la valeur nutritionnelle de la nourriture proportionnée pendant le conditionnement. La qualité de la nourriture dans le conditionnement de géniteurs joue un rôle primordial pour le succès de la croissance des larves et le développement des juvéniles en élevage. Whyte et ses collaborateurs (1986 ; 1987 ; 1988 ; 1989 ; 1990 a, b ,c ; 1991 et 1992) ont montré que : (1) les lipides sont les plus importants constituants du régime microalgal pour les larves, (2) la famille *n3* des AGPi est essentielle pour le développement des naissains, alors que celle *n6* aide à la croissance et à métamorphose de la larve, et (3) le régime alimentaire doit contenir une ration *n6* : *n3* de 0.3 : 0.5. Ils mentionnent aussi que les glucides sont des nutriments insignifiants, mais que les protéines en grande quantité, fournissent une haute valeur nutritionnelle au régime microalgal. En conséquence un régime nutritionnel doit être composé par un mélange d'espèces de microalgues qui apportent les éléments nécessaires pour couvrir toutes les exigences précédentes. Beaucoup de travaux ont été réalisés pour mettre en place des régimes alimentaires pour les élevages des bivalves en éclosierie (Waldock et Nascimento, 1979; Epifanio *et al.*, 1981; Waldock et Holland, 1984, Wilson *et al.*, 1996).

Plusieurs questions se posent concernant les facteurs qui interviennent sur le démarrage de la gamétogenèse chez *C. gigas*. C'est pourquoi, au cours de notre étude, nous avons voulu étudier pendant la période correspondante à la reprise de la gamétogenèse de cette espèce l'effet de la température et de la nourriture sur le développement des ovocytes, ainsi que les changements biochimiques dans la région gonade - glande digestive et dans la chair des huîtres durant cette époque. Pour atteindre nos objectifs, nous avons étudié deux lots d'huître ; un en provenance de la Baie des Veys où les huîtres présentent une émission partielle des gamètes due aux températures estivales de l'eau trop basses pour déclencher une émission totale des produits génitaux, et l'autre issue de La Tremblade où les conditions environnementales permettent une émission totale des gamètes en période estivale. Un des buts de nos expériences a été de prolonger les conditions hivernales (température de l'eau à

10 °C) afin de connaître la réponse des huîtres à cette condition. Des conditionnements, avec et sans nourriture, ont été réalisés de manière à observer le rôle des réserves sur la production d'ovocytes et sur le taux d'éclosion.

Conditions expérimentales

Deux lots d'huîtres âgées de 3 ans, l'un provenant la baie des Veys et l'autre de La Tremblade, ont été transportés au centre IFREMER de Brest en fin janvier 2000. Dans le laboratoire nous avons formé quatre groupes avec chaque lot : un groupe de 80 individus a été mis en conditionnement standard (température à 19 °C et nourriture abondante), le second groupe de 80 également a été mis en conditionnement standard mais sans nourriture. Ces groupes ont été conditionnés du 8 février jusqu'au 30 mars et ont été utilisés comme témoins. Les autres groupes (deux de 150 huîtres chacun) ont été placés dans des bacs de maintenance à une température de 10 °C. L'un des ces groupes a été alimenté en continu en utilisant le même régime que celui utilisé pour le conditionnement et l'autre groupe a été maintenu sans apport de nourriture. Ces groupes sont restés dans ces conditions pendant 60 jours (8 février – 9 avril 2000). A la fin de cette période, chaque groupe a été subdivisé en deux groupes qui ont été mis en conditionnement sous deux conditions : avec nourriture et sans nourriture (*Fig. VI – 1*). En résumé, nous avons testé quatre conditions ;

- **Condition 1** ; Huîtres maintenues avec de la nourriture à 10 °C pendant 60 jours, puis conditionnées (19 °C, six semaines) avec de la nourriture. Les lots ont été nommés pour la baie de Veys BVNN et pour La Tremblade TNN.

- **Condition 2** ; Huîtres maintenues avec de la nourriture à 10 °C pendant 60 jours, puis conditionnées (19 °C, six semaines) sans nourriture. Les lots ont été nommés pour la baie de Veys BVNS et pour La Tremblade TNS.
- **Condition 3** ; Huîtres maintenues sans nourriture à 10 °C pendant 60 jours, puis conditionnées (19 °C, six semaines) avec de la nourriture. Les lots ont été nommés pour la baie de Veys BVSN et pour La Tremblade TSN.
- **Condition 4** ; Huîtres maintenues sans nourriture à 10 °C pendant 60 jours, puis conditionnées (19 °C, six semaines) sans nourriture. Les lots ont été nommés pour la baie de Veys BVSS et pour La Tremblade TSS.

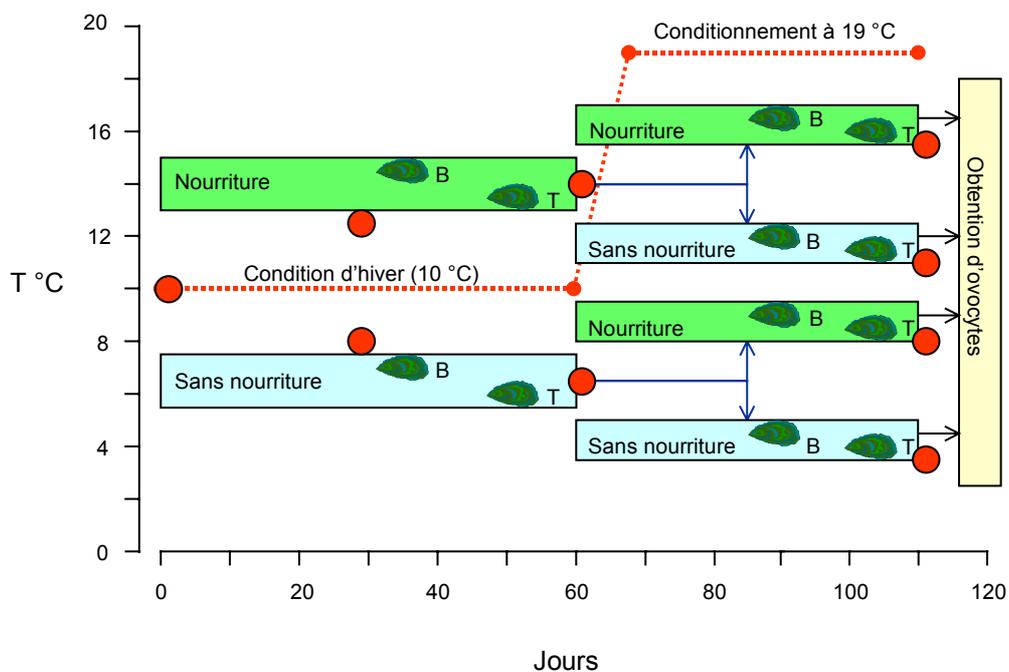


Fig. VI – 1. Schéma d'expérimentation des quatre conditions testées. B - Baie des Veys et T – La Tremblade.  Lot d'huîtres  Échantillonnage

Paramètres étudiés

Echantillonnage. Un échantillon de 20 individus de chaque lot a été prélevé au hasard au début et à la fin du premier conditionnement (février – mars 2000). Pour les quatre conditions examinées, nous avons prélevé 20 huîtres de chaque lot au début, à la moitié et à la fin de la période à 10 °C, et le dernier échantillon a été prélevé à la fin des quatre conditionnements. Le schéma d'échantillonnage est présenté sur la *Figure VI – 1*.

Cytologie. Dix animaux de chaque échantillon ont été ouverts afin de prélever un fragment de gonade pour les examens histologiques et pour déterminer la taille des ovocytes à l'analyseur d'images.

Biochimie. Pour déterminer la variation des constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) des animaux, nous avons prélevé l'ensemble gonade - glande digestive (nommé gonade) et les autres tissus (nommés chair) de dix huîtres de chaque échantillon afin de réaliser les analyses biochimiques.

Obtention de gamètes. Les animaux restants à la fin les expériences de conditionnement ont subi une scarification de la gonade afin d'obtenir des gamètes. Le nombre d'ovocytes a été estimé pour chacun des lots.

Taux d'éclosion. Pendant les manipulations de scarification un nombre équivalent d'embryons de chaque huître a été mis en élevage dans un seul bac d'élevage larvaire. Après 48 heures, les bacs ont été vidangés et les larves « D » récupérées sur un tamis de 40 µm. Trois échantillons ont été prélevés afin de réaliser le comptage larvaire et déterminer le taux d'éclosion.

Traitement statistique. Nous avons réalisé des analyses de variance à deux facteurs pour la première expérience de conditionnement (février – mars 2000) afin de déterminer les effets du site d'origine et de la nourriture sur les ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures ». Nous avons utilisé également des analyses de variance à trois facteurs dans le but d'observer : i) l'effet de différentes variables sur les proportions des

différentes catégories ovocytaires et sur le contenu des constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides), ii) l'effet du temps, des lots et de la nourriture sur les ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » pendant la période à 10 °C, iii) l'effet du temps, des lots et des conditions (quatre conditions testées) sur les différentes catégories ovocytaires pendant la phase de conditionnement, iv) l'effet des lots, du temps et de la nourriture sur la teneur des protéines, glucides et lipides dans la gonade et la chair des huîtres étudiées pendant la période à 10 °C et v) l'effet des lots, du temps et des quatre conditions examinées sur la quantité des protéines, glucides et lipides dans la gonade et dans les autres tissus des animaux pendant la phase de conditionnement.

Résultats

Ovogenèse

L'ovogenèse pour le premier conditionnement.

Sur la *Figure VI – 2* sont présentées les distributions des tailles des ovocytes pour les huîtres de la baie des Veys et de La Tremblade lors du premier conditionnement (février – mars 2000), en considérant le début de l'expérience et la fin des deux conditions testées (nourriture et sans nourriture). Dans le lot de la baie des Veys on observe des ovocytes en « début de gamétogenèse », 69 %, et en « vitellogenèse », 31 %, au début du conditionnement. A la fin de l'expérience, on constate que la plus grande proportion d'ovocytes est celle des ovocytes « matures », 71,8 %, dans la condition avec nourriture et celle des ovocytes en « vitellogenèse », 51 %, dans l'autre condition, 19 % d'ovocytes « matures ». Dans les huîtres de La Tremblade, on observe une proportion d'ovocytes en « vitellogenèse », 37 %, similaire à celle de l'autre lot pour le début du conditionnement, par contre, les proportions les plus élevées sont celles des ovocytes en « vitellogenèse » pour la condition avec nourriture, 41 %, et celle des ovocytes en « début de gamétogenèse », 52 %,

dans l'autre condition. Les proportions d'ovocytes « matures » après conditionnement sont respectivement de 38 % et 2,5 %.

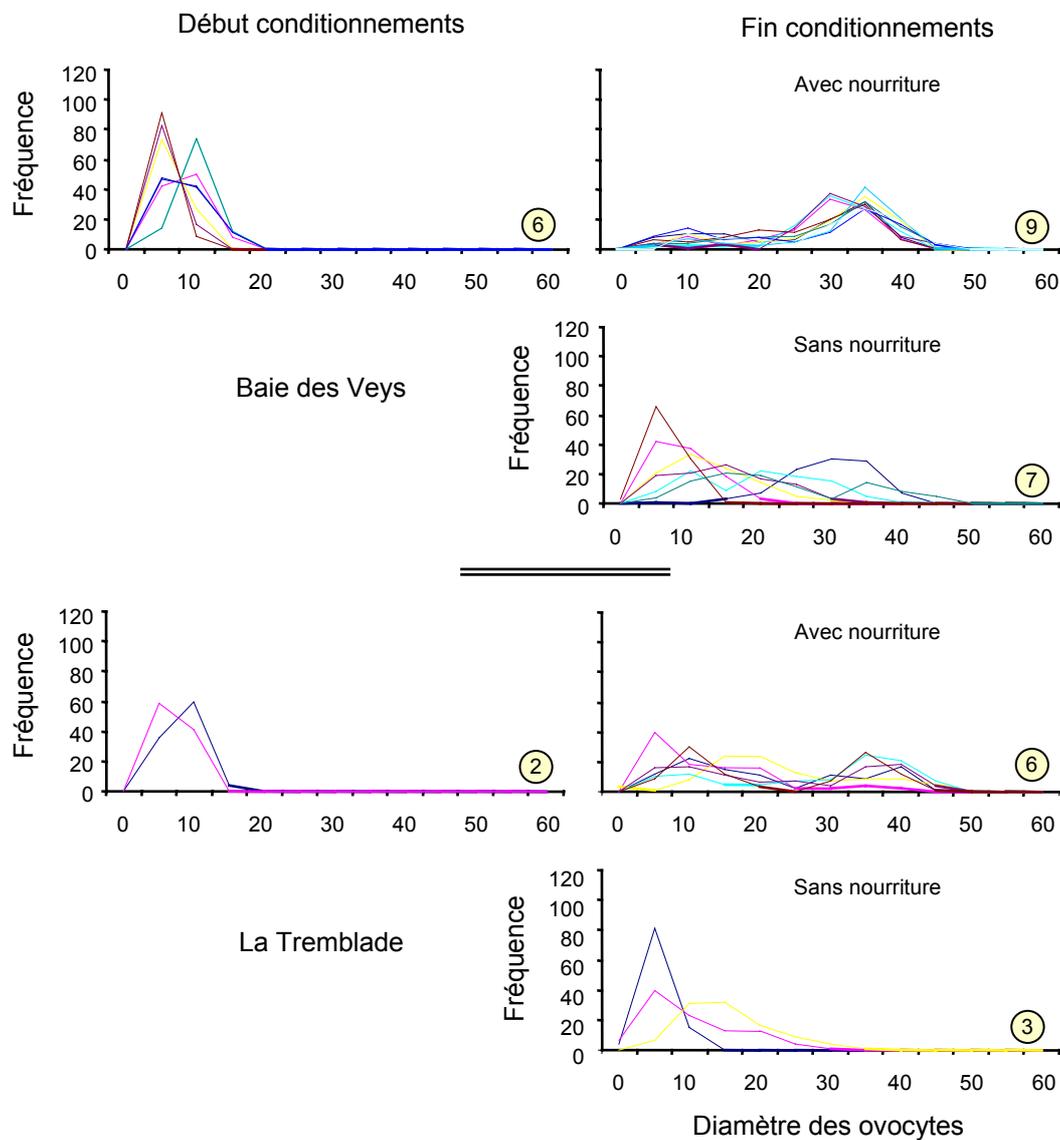


Fig. VI – 2. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* pendant les conditionnements réalisés en février – mars (2000) sous deux types : avec et sans nourriture. Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre d'individus mesurés.

L'analyse statistique (*Tableau VI – 1*) montre l'effet de la nourriture et du lot pour le premier conditionnement. On constate que la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » est significativement plus élevée ($P < 0.05$) dans la condition sans nourriture, par contre, on observe les résultats inverses pour les ovocytes « matures » car une proportion significativement plus grande se trouve dans la condition avec nourriture. Il n'existe pas de différence significative pour les ovocytes en « vitellogenèse » due à l'effet de la nourriture. Concernant l'effet du lot, la proportion significativement plus élevée ($P < 0.05$) d'ovocytes en « début de gamétogenèse » se remarque dans les huîtres de La Tremblade, et comme dans l'effet de la nourriture, cette situation s'inverse puisqu'une proportion significativement plus grande d'ovocytes « matures » est obtenue dans les animaux de la baie des Veys. Il n'y a pas de différences significatives due à l'effet du lot concernant les ovocytes en « vitellogenèse » (*Fig. VI – 3*).

Tableau VI - 1. Résultats de l'analyse de variance multiple pour le « arc – sinus racine de x » du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » en fonction de 2 variables ; nourriture et lot. Analyse pour le premier conditionnement (février – mars, 2000).

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Début de gamétogenèse					
Nourriture	1840,1	1	1840,1	8,53	0,0079
Lot	1194,1	1	1194,1	5,54	0,0280
Interactions					
Nourriture – Lot	11,1	1	11,1	0,05	0,8225
Résidus	4743,9	22	215,6		
Total	7740,7	25			
Vitellogenèse					
Nourriture	475,2	1	475,2	3,45	0,0768
Lot	68,5	1	68,5	0,5	0,4882
Interactions					
Nourriture – Lot	360,2	1	360,2	2,61	0,1202
Résidus	3031,7	22	137,8		
Total	4448,4	25			
Maturité					
Nourriture	6201,8	1	6201,8	34,8	0,0000
Lot	1615,2	1	1615,2	9,05	0,0065
Interactions					
Nourriture – Lot	78,9	1	78,9	0,44	0,5128
Résidus	3925,9	22	178,4		
Total	13050,5	25			

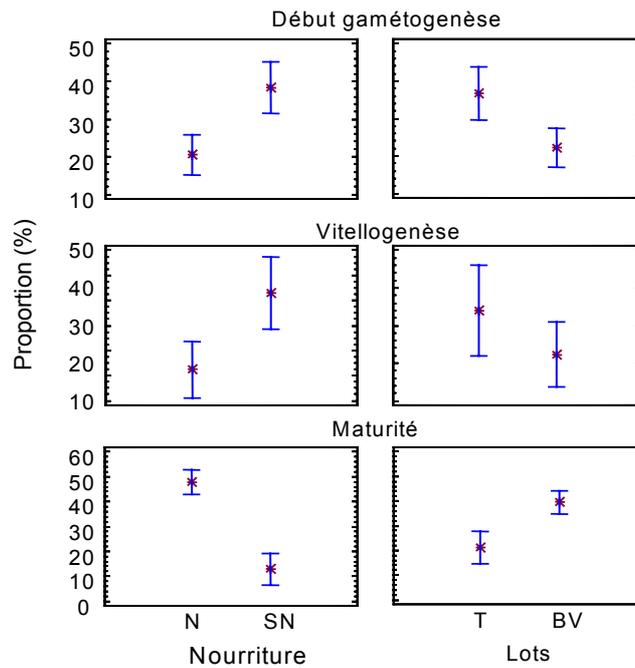


Fig. VI – 3. Résultats de l'analyse de variance à deux facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet de la nourriture (N – avec nourriture et SN – sans nourriture) et du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) sur la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » pour le premier conditionnement (février – mars, 2000).

Déroulement de l'ovogenèse dans les quatre conditions testées

Conditions 1 et 2 (avec de la nourriture pendant la période à 10 °C; puis avec et sans nourriture durant le conditionnement). On observe une proportion de 31 % d'ovocytes en « vitellogenèse » au début de la période à 10 °C pour les huîtres de la baie des Veys. Cette proportion augmente avec le temps et on constate après 60 jours une proportion équivalente à 67 % de ces ovocytes et une proportion voisine à 1 % d'ovocytes matures. Lors des deux conditionnements (avec, BVNN et sans nourriture BVNS), les proportions tant des ovocytes en « vitellogenèse » que des ovocytes « matures », sont très proches les unes des autres dans les deux conditions (respectivement 22 et 26 % d'ovocytes en « vitellogenèse » et 76 et 73 % d'ovocytes « matures ») (Fig. VI - 4). Concernant le lot de La Tremblade, une situation semblable est retrouvée pendant la période à 10 °C et lors des conditionnements. Le taux

d'ovocytes en « vitellogenèse » augmentent de 37 à 61 % du début à la fin de la période froide (pas d'ovocytes « matures »), et les proportions d'ovocytes en « vitellogenèse » et d'ovocytes « matures » sont similaires à la fin des conditionnements ; 28 et 27 % d'ovocytes en « vitellogenèse » et 68 et 72 % d'ovocytes « matures » (Fig. VI - 5).

Conditions 3 et 4 (sans nourriture pendant la période à 10 °C, puis avec et sans nourriture durant le conditionnement). Pour le lot de la baie des Veys on observe que la proportion d'ovocytes en « vitellogenèse » augmente de 31 % au début de la période froide jusqu'à 40 % à la fin de cette phase. Les ovocytes matures sont majoritaires, 88 %, à la fin du conditionnement avec nourriture (BVSN). Dans l'autre condition (BVSS), la proportion la plus élevée correspond aux ovocytes en « vitellogenèse », 76 %, et on observe 13 % d'ovocytes « matures » (Fig. VI – 6). Même si au début de la phase à 10 °C on constate la présence d'ovocytes en « vitellogenèse », 37 %, dans les huîtres de La Tremblade, à la fin de la période cette catégorie ovocytaire représente seulement 13 %. Pour le conditionnement avec de la nourriture (TSN), la proportion la plus importante est celle des ovocytes « matures », 56 %, et dans l'autre condition (TSS), les huîtres n'arrivent pas à produire des ovocytes « matures » (condition 4 ; sans nourriture pendant la période froide et sans nourriture pendant le conditionnement) (Fig. VI – 7).

Pour les analyses statistiques nous avons divisé les conditions testées en deux parties ; la première montre l'effet du lot, du temps et de la nourriture pour les différentes catégories ovocytaires pendant la période à 10 °C. La seconde analyse l'effet de la condition, du lot et du temps sur les ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » pendant les quatre conditionnements après la phase froide. Les résultats de la première partie (Tableau VI – 2) indiquent que chez les huîtres de La Tremblade il existe une proportion significativement plus élevée ($P < 0.05$) d'ovocytes en « début de gamétogenèse » par comparaison avec les animaux de la baie des Veys, et le nombre de ces ovocytes diminue significativement avec le temps ($P < 0.05$). La proportion la plus élevée de cette catégorie ovocytaire est rencontrée dans la condition avec de la nourriture

($P < 0.05$). Par contre, la proportion d'ovocytes en « vitellogenèse » est significativement plus importante dans les individus de la baie des Veys et ces ovocytes augmentent significativement avec le temps ($P < 0.05$). Comme pour les ovocytes en « début de gamétogenèse », la proportion d'ovocytes en « vitellogenèse » est significativement plus élevée dans la condition avec de la nourriture ($P < 0.05$). Même si dans le lot de la baie des Veys on commence à observer des ovocytes « matures », l'analyse statistique ne montre aucun effet significatif des variables (Fig. VI – 8).

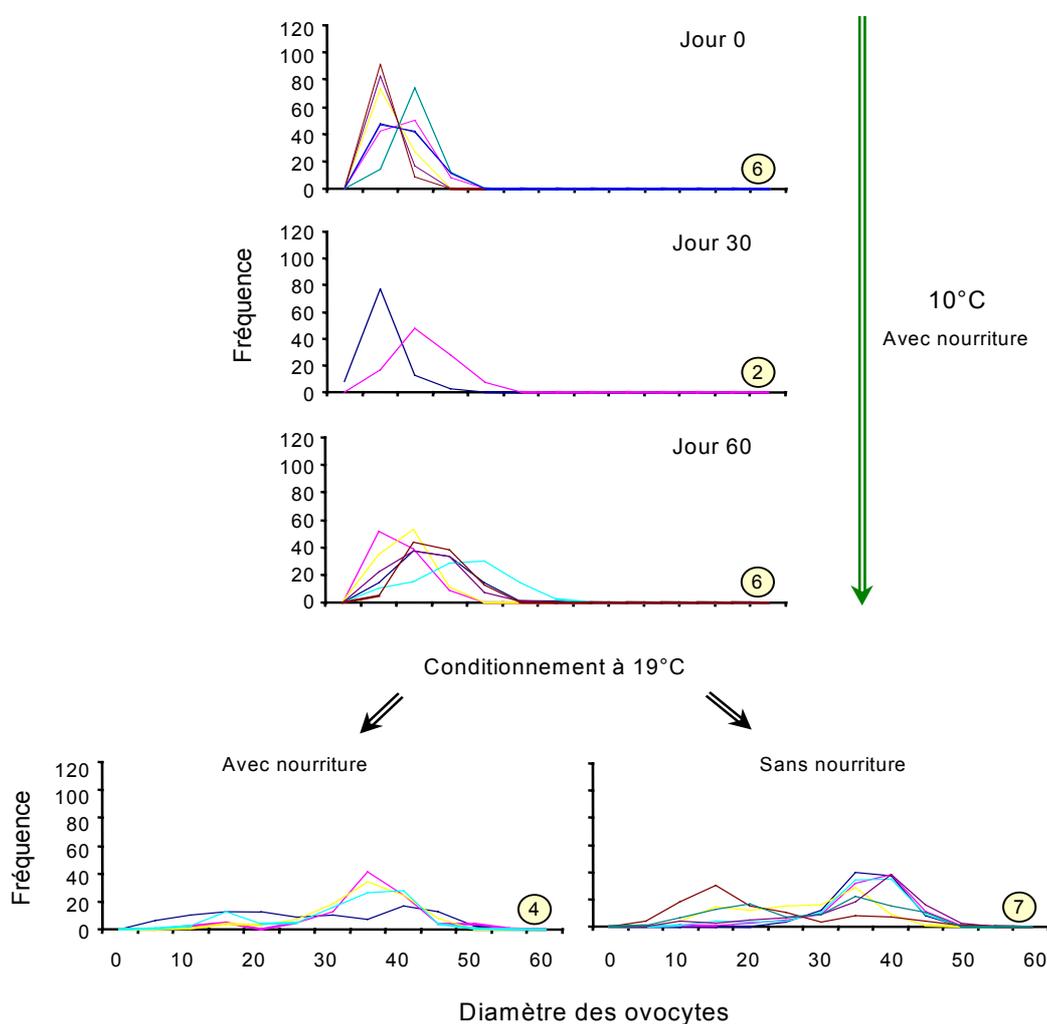


Fig. VI – 4. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de la baie des Veys pour les conditions 1 et 2. Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre d'individus mesurés.

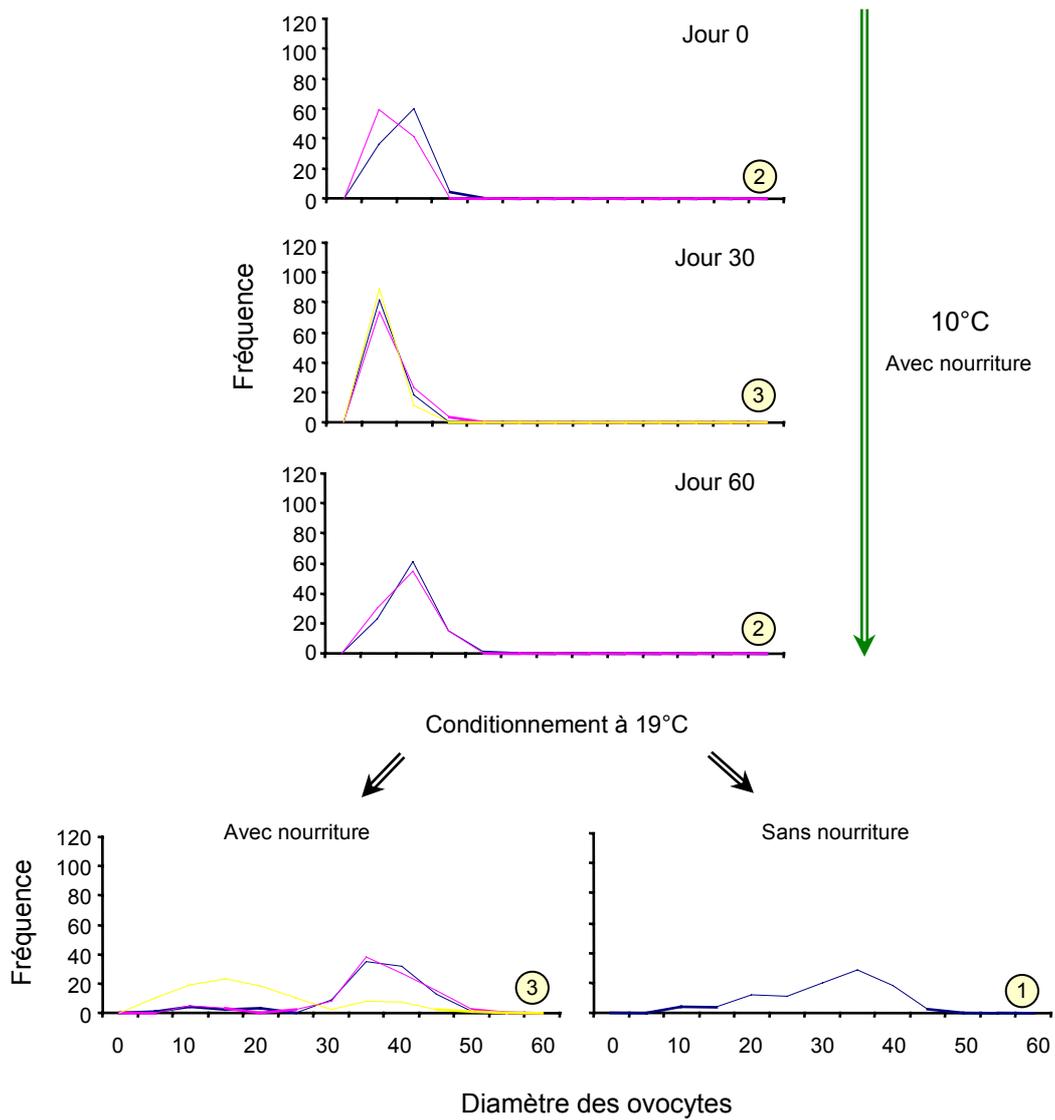


Fig. VI – 5. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de La Tremblade pour les conditions 1 et 2. Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre d'individus mesurés.

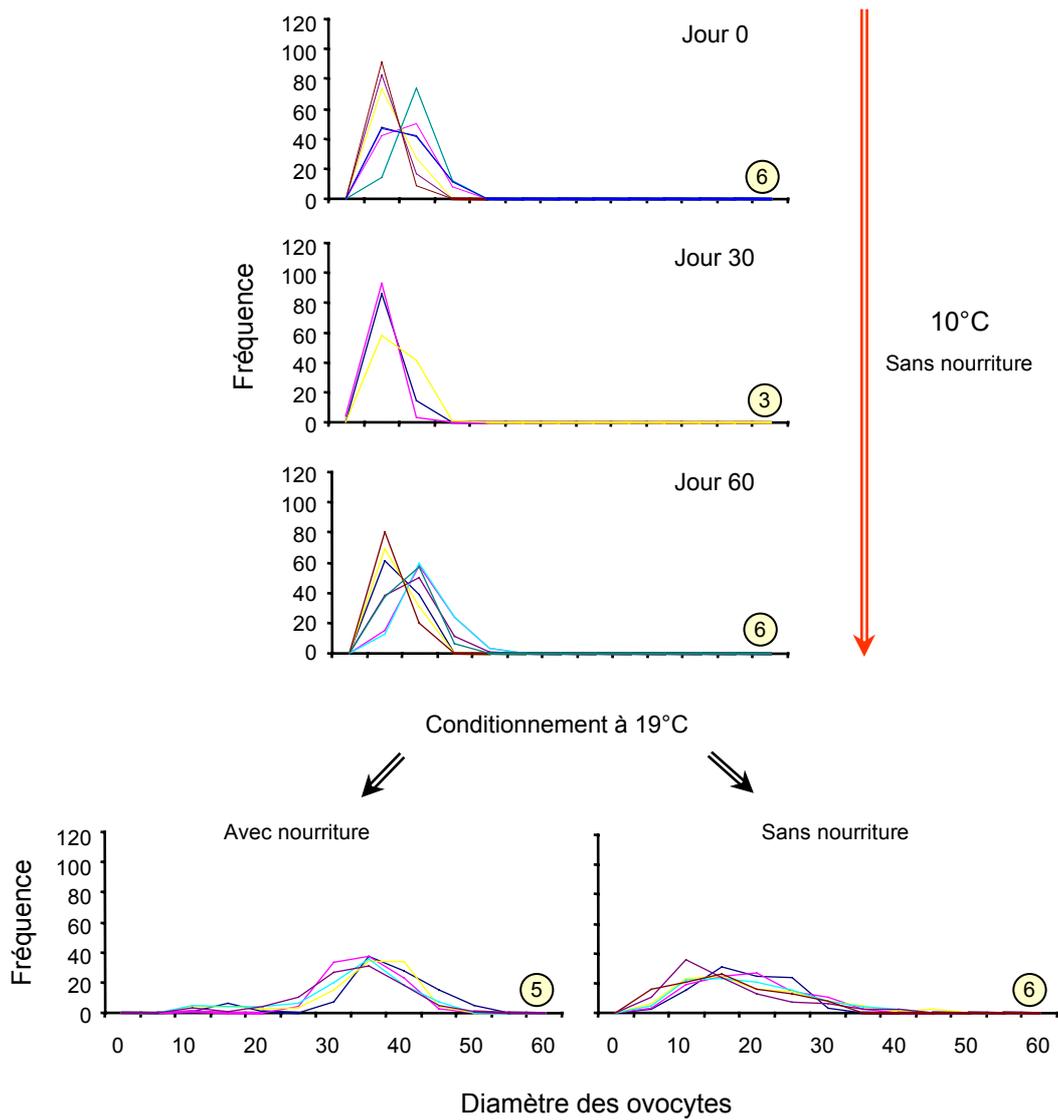


Fig. VI – 6. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de la baie des Veys pour les conditions 3 et 4. Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre d'individus mesurés.

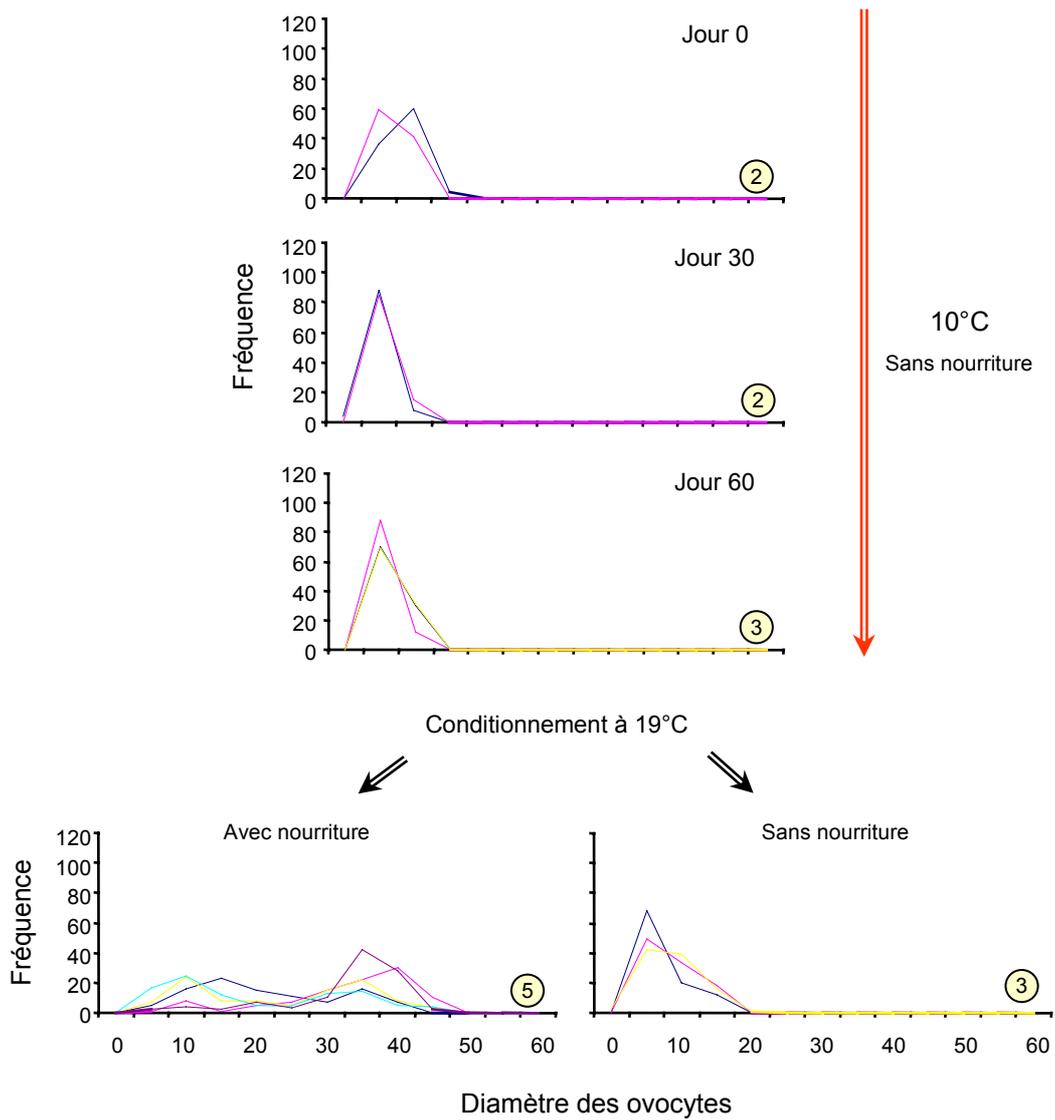


Fig. VI – 7. Evolution des diamètres ovocytaires des huîtres *Crassostrea gigas* provenant de La Tremblade pour les conditions 3 et 4. Chaque ligne représente un seul individu et les chiffres (●) représentent le nombre d'individus mesurés.

Tableau VI - 2. Résultats de l'analyse de variance multiple pour le « arc – sinus racine de x » du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » en fonction de 3 variables ; lot, nourriture et temps. Analyse pour la période à 10 °C.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Début de gamétogenèse					
Lot	1016,3	1	1016,3	4,36	0,0491
Nourriture	1808,2	1	1808,2	7,76	0,0111
Temps	2378,9	1	2378,9	10,21	0,0043
Interactions					
Lot – Nourriture	21,03	1	21,03	0,09	0,7668
Lot – Temps	7,38	1	7,38	0,03	0,8604
Nourriture - Temps	131,58	1	131,58	0,56	0,4607
Résidus	4892,03	21	232,9		
Total	11392,4	27			
Vitellogenèse					
Lot	993,1	1	993,1	4,33	0,0499
Nourriture	1768,2	1	1768,2	7,71	0,0113
Temps	2343,3	1	2343,1	10,21	0,0043
Interactions					
Lot – Nourriture	25,6	1	25,6	0,11	0,7417
Lot – Temps	9,51	1	9,51	0,04	0,8406
Nourriture - Temps	120,9	1	120,9	0,53	0,4758
Résidus	4818,9	21	229,5		
Total	11143,6	27			
Mature					
Lot	2,57	1	2,57	0,45	0,5079
Nourriture	4,3	1	4,3	0,76	0,3938
Temps	2,57	1	2,57	0,45	0,5079
Interactions					
Lot – Nourriture	4,3	1	4,3	0,76	0,3938
Lot – Temps	2,57	1	2,57	0,45	0,5079
Nourriture - Temps	4,3	1	4,3	0,76	0,3938
Résidus	119,2	21	5,67		
Total	155,4	27			

L'analyse de variance présentant l'effet de la condition, du lot et du temps lors des conditionnements (*Tableau VI – 3*), montre que la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » dans les conditions 3 (BVSN et TSN) et 4 (BVSS et TSS), est significativement plus élevée ($P < 0.05$) que dans les conditions 1 (BVNN et TNN) et 2 (BVNS et TNS). Le lot de La Tremblade possède la proportion la plus élevée d'ovocytes en « début de gamétogenèse » et cette proportion diminue significativement avec le temps ($P < 0.05$). Pour les ovocytes en « vitellogenèse », l'analyse statistique ne montre aucun effet significatif des variables. Concernant les ovocytes « matures », leur proportion

augmente significativement avec le temps et celle ayant que la plus élevée est celle des huîtres de la baie des Veys ($P < 0.05$). Il n'existe pas de différences significatives des proportions correspondantes aux ovocytes « matures » parmi les conditions 1, 2 et 3, cependant la proportion de ces ovocytes est significativement plus basse dans la condition 4 (Fig. VI – 9).

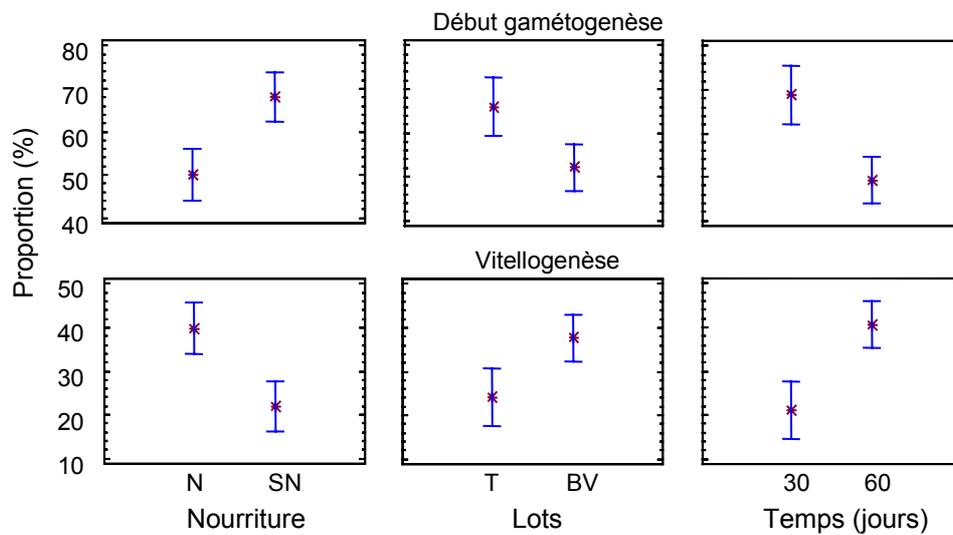


Fig. VI – 8. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet de la nourriture (N – avec nourriture et SN – sans nourriture), du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) et du temps sur la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » et en « vitellogenèse » pendant la période à 10 °C.

Tableau VI - 3. Résultats de l'analyse de variance multiple pour le « arc – sinus racine de x » du pourcentage d'ovocytes en « début de gamétogenèse », en « vitellogenèse » et « matures » en fonction de 3 variables ; condition, lot et temps. Analyse pour le conditionnement après la période à 10 °C.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Début de gamétogenèse					
Condition	6579,9	3	2193,3	16,9	0,0000
Lot	2152,8	1	2152,8	16,6	0,0000
Temps	16340,1	1	16340,1	126,3	0,0000
Interactions					
Condition – Lot	1059,8	3	353,2	2,73	0,0523
Condition – Temps	1658,5	3	552,8	4,27	0,0087
Lot - Temps	39,2	2	39,2	0,3	0,5842
Résidus	7242,7	56	129,3		
Total	39628,4	68			
Vitellogenèse					
Condition	1639,5	3	546,5	2,97	0,0395
Lot	354	1	354	1,92	0,1711
Temps	561,4	1	561,4	3,05	0,0862
Interactions					
Condition – Lot	1021,9	3	340,6	1,85	0,1486
Condition – Temps	6364,6	3	2121,5	11,52	0,0000
Lot - Temps	560,7	1	560,7	3,04	0,0864
Résidus	10500,4	57	184,21		
Total	22171,2	69			
Mature					
Condition	7190,4	3	2396,8	26,7	0,0000
Lot	701,3	1	701,3	7,81	0,0071
Temps	29083,9	1	29083,9	323,9	0,0000
Interactions					
Condition – Lot	167,7	3	55,9	0,02	0,6030
Condition – Temps	7012,9	3	2337,6	26,1	0,0000
Lot - Temps	614,6	1	614,6	6,85	0,0114
Résidus	5116,7	57	89,76		
Total	58774,6	69			

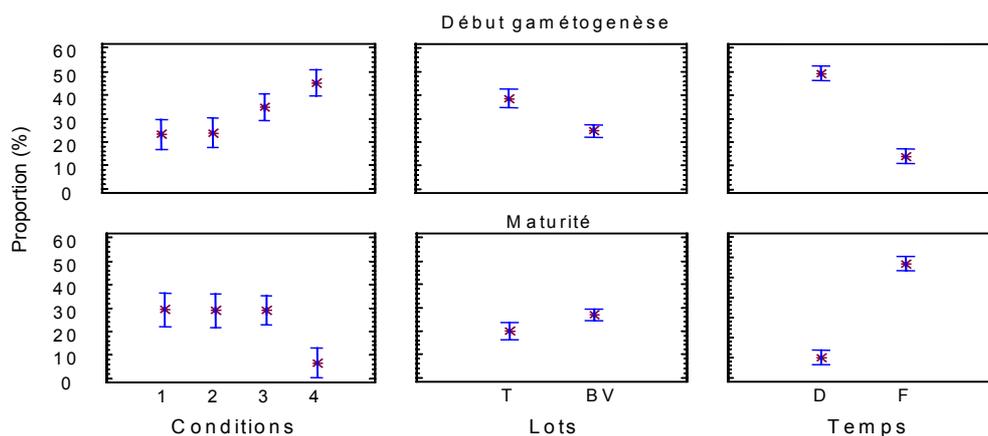


Fig. VI – 9. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet des conditions testées, du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) et du temps (D – début et F – fin des conditionnements) sur la proportion d'ovocytes en « début de gamétogenèse » et en « vitellogenèse » pour les conditionnements après la période froide.

Spermatogenèse

Dans les *Tableaux VI – 4* et *VI - 5* figurent les nombres d’huîtres mâles et leurs stades de développement gamétique observés au cours du premier conditionnement (février – mars 2000) et dans les quatre conditions testées ensuite. Le faible nombre de mâles observés, tant dans la première expérience que dans les conditionnements, ne permet pas de déterminer une tendance ou une évolution de la spermatogenèse pour ces huîtres.

Tableau VI - 4. Nombre d’huîtres mâles observées et leurs stades de développement gamétique dans la première expérience de conditionnement (février – mars 2000).

Lots	Baie des Veys		La Tremblade	
	Début	Fin	Début	Fin
Conditionnement				
Avec nourriture				
Début gamétogenèse	1	-	-	-
Croissance	1	-	-	3
Maturité	-	-	-	1
Sans nourriture				
Début gamétogenèse	1	-	-	-
Croissance	1	-	-	-
Maturité	-	3	-	-

Tableau VI - 5. Nombre d’huîtres mâles observées et leurs stades de développement gamétique dans les quatre conditions testées. Fin C – fin du conditionnement.

Lots	Baie des Veys				La Tremblade			
	Périodes	10 °C			10 °C			Fin C
Temps (jours)	0	30	60	110	0	30	60	110
Condition 1								
Début gamétogenèse	1	2	-	-	-	1	4	-
Croissance	1	-	2	-	-	1	-	-
Maturité	-	-	-	4	-	-	-	7
Condition 2								
Début gamétogenèse	1	2	-	-	-	1	4	-
Croissance	1	-	2	2	-	1	-	2
Maturité	-	-	-	1	-	-	-	4
Condition 3								
Début gamétogenèse	1	1	-	-	-	-	-	-
Croissance	1	-	2	-	-	-	-	1
Maturité	-	-	-	3	-	-	-	5
Condition 4								
Début gamétogenèse	1	1	-	-	-	-	-	1
Croissance	1	-	2	4	-	-	-	-
Maturité	-	-	-	-	-	-	-	-

Etude biochimique

La *Figure VI – 10* présente les résultats de la comparaison du poids sec total des huîtres au début et à la fin des quatre conditions testées pour les deux lots d'animaux. On constate des différences significatives pour les huîtres de La Tremblade entre le début de l'expérience et la fin de la condition TNN (4) ($p < 0.05$). Il n'existe pas de différences significatives pour les autres conditions ni dans les animaux de la baie des Veys.

La *Figure VI - 11* donne la teneur (mg / équivalent animal) en protéines, glucides et lipides au début et à la fin du premier conditionnement (février – mars 2000). L'évolution la plus importante concerne les protéines dont la teneur augmente considérablement dans la chair des animaux des deux lots. Une augmentation notable est également observée dans la gonade des huîtres conditionnées avec de la nourriture, par contre, l'augmentation des protéines dans la gonade des animaux conditionnés sans nourriture est faible. On aperçoit une tendance différente entre les lots dans le cas de glucides. Pendant que dans la gonade et dans la chair des huîtres de la baie des Veys la teneur en glucide diminue dans les deux conditions, cette dernière augmente dans les animaux de La Tremblade. L'évolution de la teneur en lipides est semblable dans les deux lots durant les conditionnements, cependant l'augmentation la plus importante est constatée dans les huîtres de La Tremblade.

L'analyse statistique montre un effet significatif de la nourriture, du lot et du temps sur les constituants biochimiques de la chair et de la gonade des huîtres pendant le premier conditionnement (*Tableau VI - 6*). La teneur la plus élevée dans la gonade et la chair est celle des protéines, elle est significativement différente de celles des glucides et lipides ($P < 0.05$). La nourriture (condition avec et sans nourriture) n'a pas d'effet significatif sur la composition biochimique de la chair des animaux. Enfin, on observe que la teneur en constituants augmente significativement ($P < 0.05$) à la fin des conditionnements (*Fig. VI – 12*).

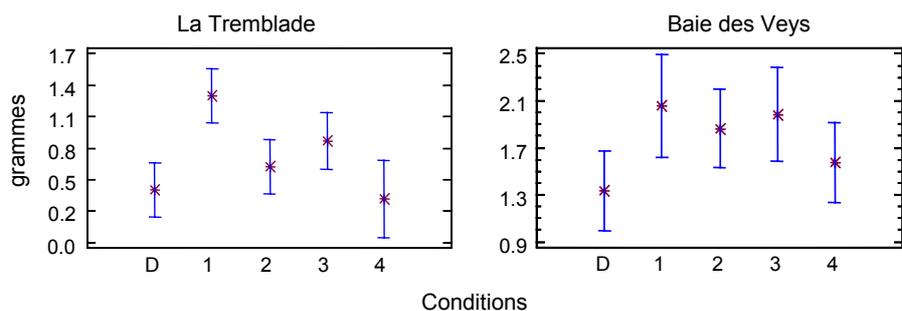


Fig. VI – 10. Comparaison du poids sec total des huîtres entre le début de l'expérience (D) et la fin des conditions testées (1, 2, 3 et 4) pour le deux lots étudiés.

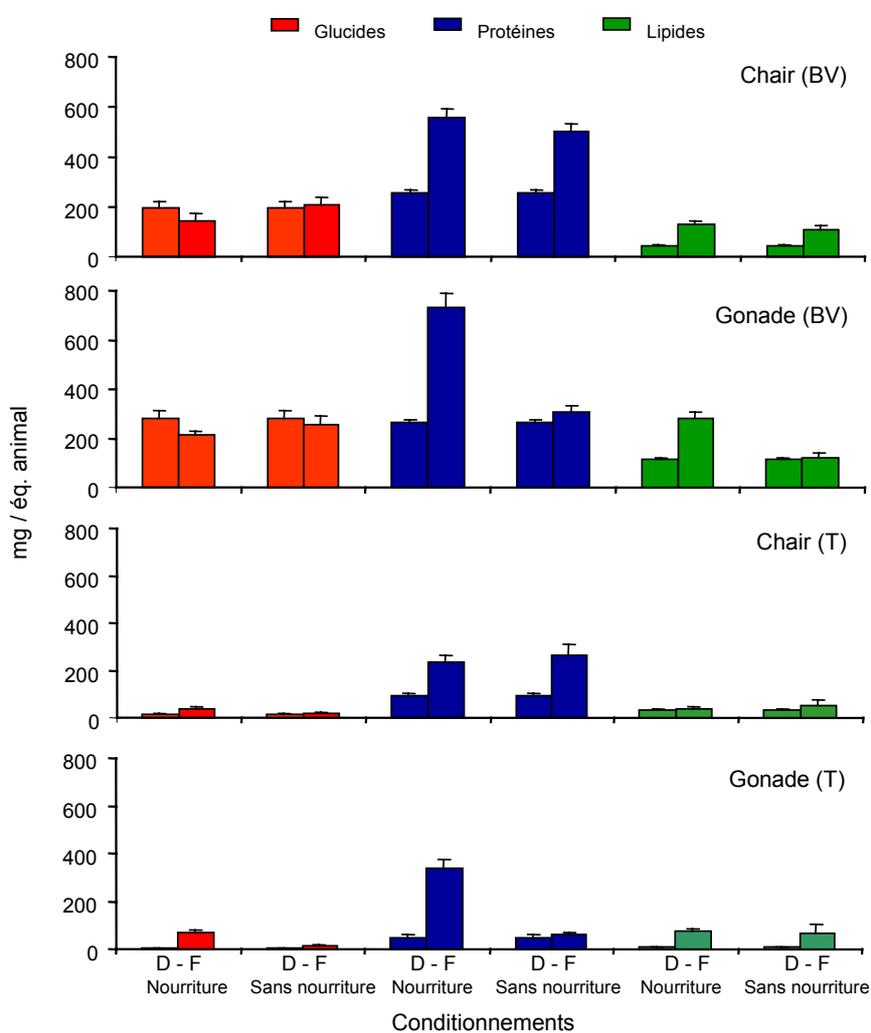


Fig. VI – 11. Teneur de protéines, glucides et lipides dans la chair et la gonade des huîtres au début (D) et à la fin (F) du premier conditionnement sous deux conditions : avec et sans nourriture. BV – Baie des Veys et T – La Tremblade.

La *Figure VI – 13* présente la teneur des constituants biochimiques dans la chair et dans la gonade des huîtres de la baie des Veys pour les quatre conditions testées. Dans la chair des animaux on observe une tendance similaire entre les différentes conditions pendant la période à 10 °C (0 – 60 jours). Les teneurs en protéines, glucides et lipides augmentent durant les 30 premiers jours, puis les teneurs en protéines et en lipides continuent à augmenter pendant la seconde moitié de cette phase, au froid, tandis que celle en glucides diminue. Concernant la période des conditionnements (60 – 110 jours), le taux de protéines diminue dans toutes les conditions, le taux de glucides diminue aussi dans les conditions avec nourriture (BVNN et BVSN) et augmente dans les conditions sans nourriture (BVNS et BVSS). La teneur en lipides tend à diminuer dans tous les cas.

Les résultats correspondants à la gonade pendant la période à 10 °C montrent que dans les conditions avec nourriture les constituants tendent à augmenter légèrement, tandis que dans les conditions sans nourriture peu de variations sont constatées. Pendant les conditionnements on aperçoit que le taux de protéines augmente considérablement dans les conditions avec nourriture (BVNN et BVSN) et restent sans variation dans les autres conditions (BVNS et BVSS). La teneur en glucides diminue dans les conditions BVNN et BVNS (avec et sans nourriture) et restent sans variation dans les conditions BVSN et BVSS. Enfin, le taux de lipides augmente dans les conditions avec nourriture (BVNN et BVSN) et restent stable dans les autres conditions (BVNS et BVSS).

Tableau VI - 6. Résultats de l'analyse de variance multiple pour la teneur (mg / équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et dans la gonade des huîtres en fonction de 3 variables ; lot, nourriture et temps. Analyse pour le premier conditionnement (février – mars 2000).

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Chair					
Lot	1,03 E6	1	1,03 E6	54,2	0,0000
Nourriture	936,7	1	936,7	0,05	0,8246
Temps	433395	1	433395	22,7	0,0000
Interactions					
Lot – Nourriture	814,4	1	814,4	0,04	0,8366
Lot – Temps	28714,5	1	28714,5	1,5	0,2217
Nourriture - Temps	1179,6	1	1179,6	0,06	0,8040
Résidus	3,07 E6	161	3576,8		
Total	4,75 E6	167			
Gonade					
Lot	2,25 E6	1	2,25 E6	126,3	0,0000
Nourriture	324793	1	324793	18,2	0,0000
Temps	349092	1	349092	19,5	0,0000
Interactions					
Lot – Nourriture	7675,7	1	7675,7	0,43	0,5132
Lot – Temps	1445,8	1	1445,8	0,08	0,7765
Nourriture - Temps	339690	1	339690	18,9	0,0000
Résidus	3,12 E6	175	17883,3		
Total	6,36 E6	181			

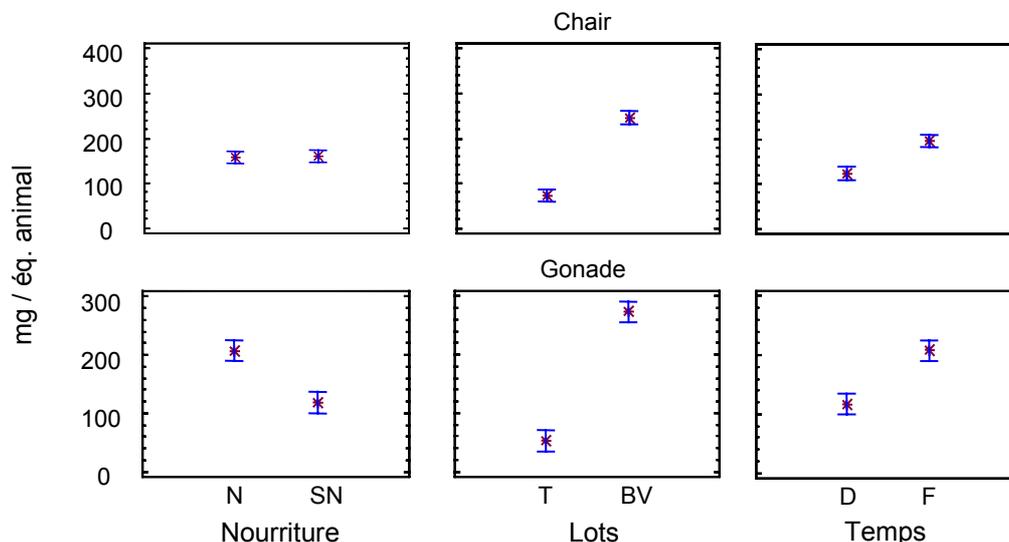


Fig. VI – 12. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet de la nourriture (N – avec nourriture et SN – sans nourriture), du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) et du temps (D – début et F – fin du conditionnement) sur la teneur (mg équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres pendant le premier conditionnement (février – mars 2000).

Les résultats sur les teneurs en protéines, glucides et lipides dans la chair et la gonade des huîtres de La Tremblade sont présentés sur la *Figure VI – 14*. Dans la seconde moitié de la phase à 10 °C, on constate que la teneur en protéines présente la plus importante progression dans tous les cas de conditionnement, alors que les taux de glucides et de lipides varient peu. Durant les conditionnements, la variation la plus considérable est observée pour les protéines dans les conditions TNN et TSN (avec nourriture), pendant que dans les conditions sans nourriture le taux de protéines reste inchangé. Concernant les glucides et lipides, dans les conditions TNS, TSN et TSS aucune variation importante n'est constatée, et dans la condition TNN, on constate une légère augmentation des ces constituants à la fin des conditionnements.

Les constituants biochimiques de la gonade présentent la même tendance que ceux de la chair pendant la période à 10 °C : l'augmentation la plus importante est celle des protéines alors que les glucides et lipides restent sans variation dans toutes les conditions. Dans la phase de conditionnement, l'augmentation la plus importante est celle des protéines dans les conditions avec nourriture (TNN et TSN) et le taux de lipides augmente également. Par contre ces constituants restent sans variations considérables dans les conditions sans nourriture (TNS et TSS). Les glucides ne présentent pas de variations importantes dans toutes les conditions.

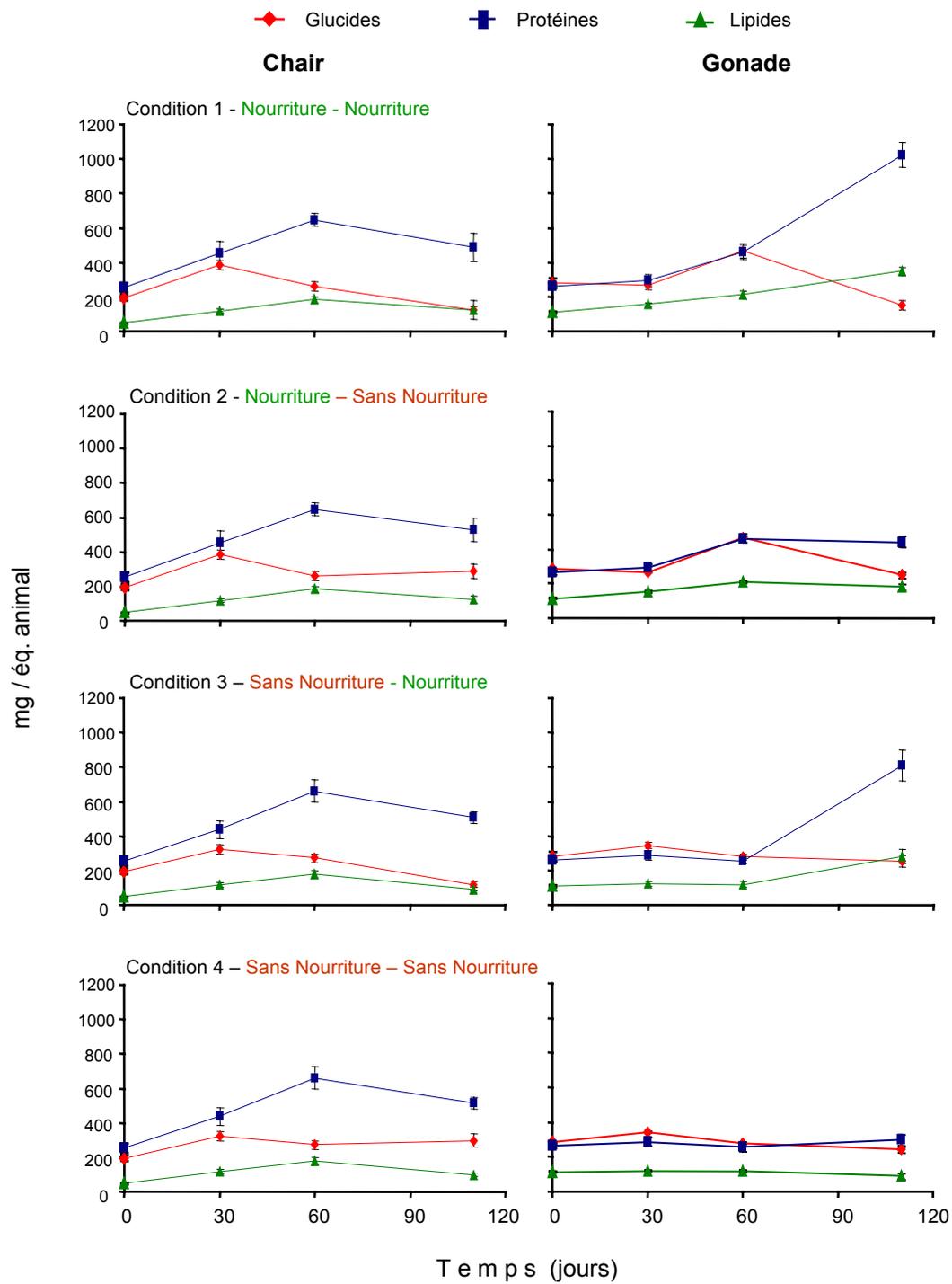


Fig. VI – 13. Teneur en protéines, glucides et lipides dans la chair et la gonade des huîtres de la baie des Veys pour les quatre conditions testées. Période à 10 °C (0 – 60 jours) et conditionnements (60 – 110 jours).

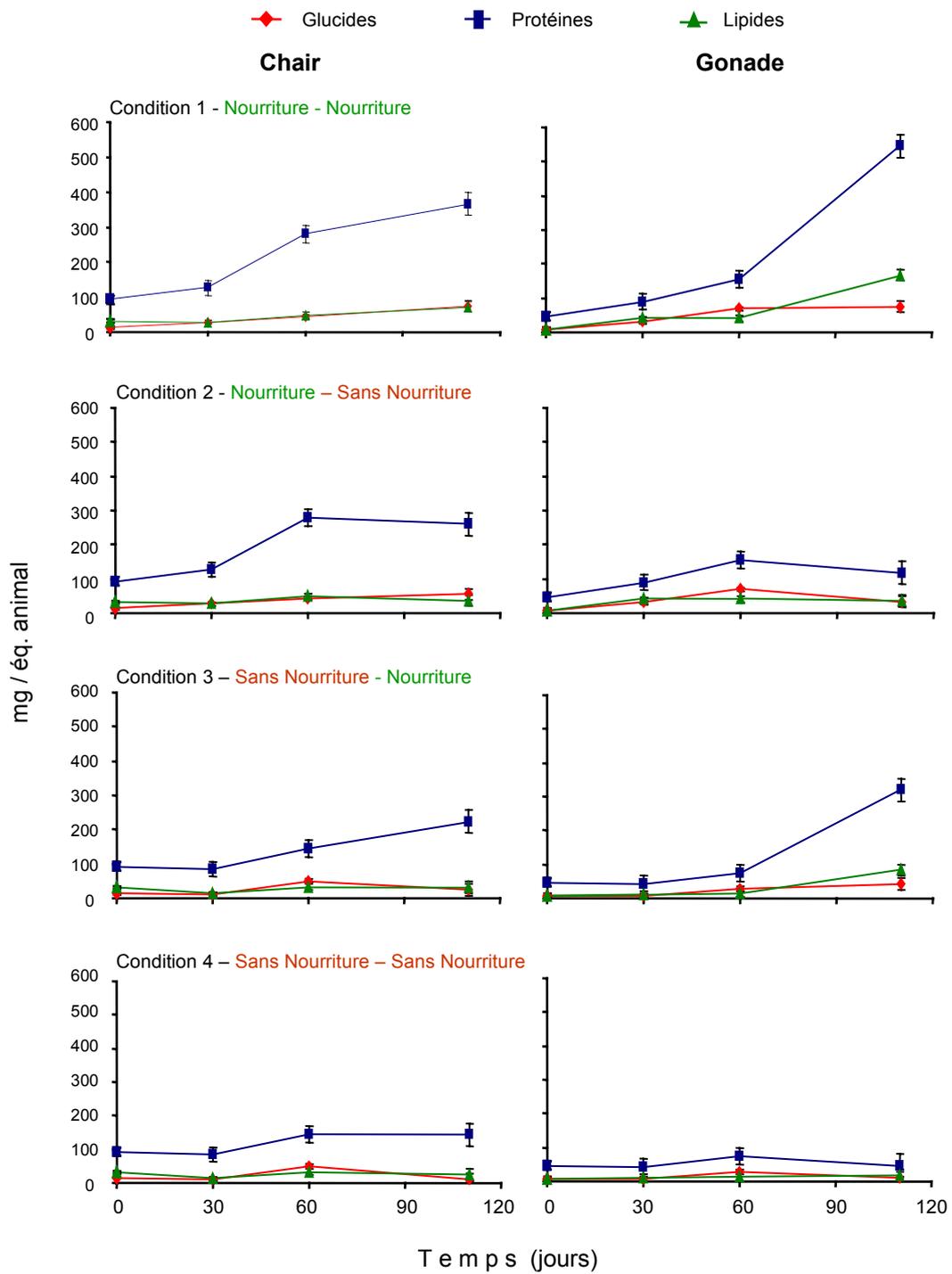


Fig. VI – 14. Teneur en protéines, glucides et lipides dans la chair et la gonade des huîtres de La Tremblade pour les quatre conditions testées. Période à 10 °C (0 – 60 jours) et conditionnements (60 – 110 jours).

Comme dans le cas de l'étude portant sur les ovocytes, pour l'analyse biochimique, nous avons divisé les conditions testées en deux parties afin de réaliser les tests statistiques ; la première partie montre l'effet de la nourriture, le lot et le temps sur la teneur (mg / éq. animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres pendant la période à 10 °C. La deuxième partie analyse l'effet des conditions testées, du lot et du temps sur le contenu des constituants biochimiques dans la chair et la gonade durant la phase des conditionnements. Les concentrations en constituants biochimiques sont significativement plus élevées chez le lot de la baie des Veys ($P < 0.05$) que chez les huîtres de La Tremblade. On observe que ces quantités augmentent significativement avec le temps ($P < 0.05$) et qu'il n'existe pas de différences significatives entre les conditions avec et sans nourriture (Tableau VI – 7). Les résultats de l'analyse de la gonade pendant la phase au froid montrent que la concentration la plus grande des constituants biochimiques se trouve dans les individus de la baie des Veys et cette quantité augmente significativement avec le temps ($P < 0.05$). Dans le cas de la gonade, on observe des différences significatives qui favorisent la condition avec nourriture ($P < 0.05$) (Fig. VI - 15).

Tableau VI - 7. Résultats de l'analyse de variance multiple pour la teneur (mg / équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres en fonction de 3 variables ; lot, nourriture et temps. Analyse pour la période à 10 °C.

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Chair					
Lot	2,73 E6	1	2,73 E6	100	0,0000
Nourriture	21011,2	1	21011,2	0,77	0,3816
Temps	224169	1	224169	8,22	0,0048
Interactions					
Lot – Nourriture	8410,4	1	8410,4	0,31	0,5796
Lot – Temps	5842,8	1	5842,8	0,21	0,6442
Nourriture – Temps	2307,9	1	2307,9	0,08	0,7716
Résidus	3,92 E6	144	27282,3		
Total	7,15 E6	150			
Gonade					
Lot	1,9 E6	1	1,9 E6	229,5	0,0000
Nourriture	149781	1	149781	18	0,0000
Temps	127086	1	127086	15,3	0,0008
Interactions					
Lot – Nourriture	39083,7	1	39083,7	4,7	0,0318
Lot – Temps	20100	1	20100	2,42	0,1222
Nourriture – Temps	96709,3	1	96709,3	11,62	0,0008
Résidus	1,22 E6	147	8319,3		
Total	3,9 E6	153			

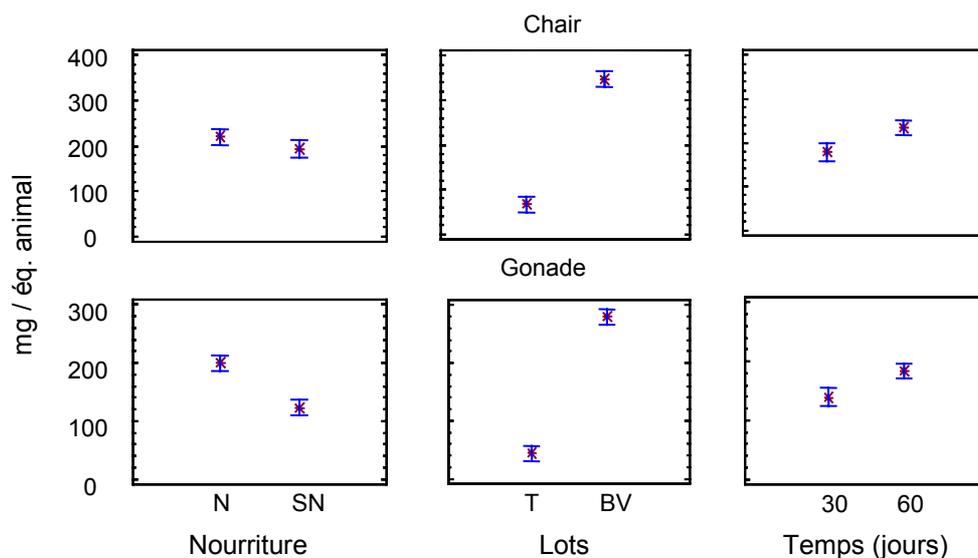


Fig. VI – 15. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet de la nourriture (N – avec nourriture et SN – sans nourriture), du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) et du temps sur la teneur (mg équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres pendant la période à 10 °C.

Les résultats des analyses statistiques concernant le contenu en constituants biochimiques de la chair et de la gonade des huîtres pendant les conditionnements sont présentés dans le *Tableau VI – 8*. Dans la chair, les concentrations des constituants biochimiques sont significativement plus grandes ($P < 0.05$) dans les conditions avec nourriture et la concentration la plus élevée est constatée pour le lot de la baie des Veys. La concentration en constituants biochimiques diminue significativement avec le temps ($P < 0.05$) dans la chair des huîtres pendant les conditionnements. Les résultats de l'analyse de la teneur des constituants dans la gonade des huîtres durant les conditionnements montrent que la quantité des constituants est significativement plus grande ($P < 0.05$) dans la condition 1 (BVNN et TNN) par rapport aux autres conditions, il n'existe pas de différences significatives entre les conditions 2 (BVNS et TNS) et 3 (BVSN et TSN). La concentration la plus basse est constatée dans la dernière condition. Enfin, on observe une accumulation significative ($P < 0.05$) des constituants dans la gonade à la fin des conditionnements (*Fig. VI – 16*).

Tableau VI - 8. Résultats de l'analyse de variance multiple pour la teneur (mg / équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres en fonction de 3 variables ; conditions, lot et temps. Analyse pour la période des conditionnements

Source	Carré des écarts	Degré de liberté	Moyenne au carré	Test de Fisher	Signification du test
Chair					
Condition	97688,9	3	32563	1,02	0,3829
Lot	5,02 E6	1	5,02 E6	157,8	0,0000
Nourriture	147545	1	147545	4,63	0,0321
Interactions					
Condition – Lot	204478	3	65159,3	2,14	0,0950
Condition – Nourriture	30458,7	3	10152,9	0,32	0,8119
Lot – Nourriture	236027	1	236027	7,41	0,0068
Résidus	1,11 E7	350	31861,6		
Total	1,71 E7	362			
Gonade					
Condition	1,47 E6	3	492786	17,9	0,0000
Lot	5,51 E6	1	5,51 E6	201,2	0,0000
Nourriture	308652	1	308652	11,27	0,0009
Interactions					
Condition – Lot	98288,5	3	32762,8	1,2	0,3113
Condition – Nourriture	923533	3	307844	11,24	0,0000
Lot – Nourriture	324,5	1	324,5	0,01	0,9134
Résidus	9,58 E6	350	27397,6		
Total	1,71 E7	362			

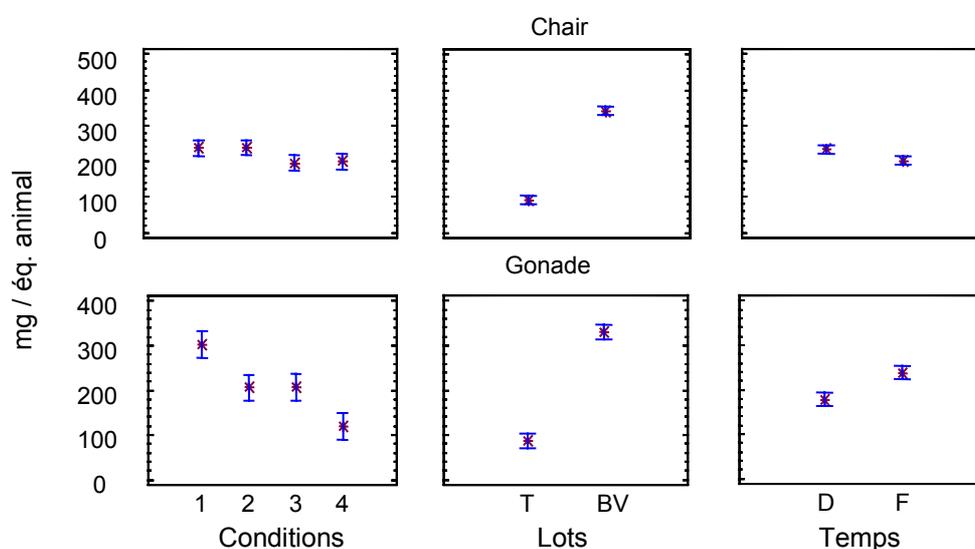


Fig. VI – 16. Résultats de l'analyse de variance à trois facteurs ($P < 0.05$) permettant de déterminer l'effet des conditions testées, du lot (T – La Tremblade et BV – Baie des Veys) et du temps (D – début et F – fin du conditionnement) sur la teneur (mg équivalent animal) des constituants biochimiques dans la chair et la gonade des huîtres durant les conditionnements après la période froide.

Production d'ovocytes et taux d'éclosion

Les résultats de la production d'ovocytes lors des conditionnements réalisés en février – mars (2000) et ceux après la période à 10 °C sont présentés sur la *Figure VI – 17*.

Les résultats pour le premier conditionnement indiquent que les huîtres de la baie des Veys ont produit plus d'ovocytes que les animaux de La Tremblade en considérant les conditions avec et sans nourriture (BVN et BVS). On observe pour ces trois conditions, des taux d'éclosion élevés, de 62 %, pour les huîtres de la baie des Veys non nourries et respectivement de 85 et 78 % pour les animaux nourris de la baie des Veys et de La Tremblade.

Dans le cas des autres conditionnements (après la période à 10 °C), on constate que la plus grande production d'ovocytes a lieu chez les huîtres nourries et que les valeurs favorisent les animaux de la baie des Veys (BVNN et BVSN). Il a été impossible d'obtenir des ovocytes viables après scarification pour les huîtres de la Tremblade maintenues dans la condition 4 (TSS). Les taux d'éclosion les plus élevés sont observés chez les huîtres non nourries pendant la période à 10 °C et chez celles nourries durant le conditionnement dans les deux lots (80 % pour BVSN et 60 % pour TSN). Le taux d'éclosion le plus bas est constaté dans la condition BVNN pour les huîtres de la baie des Veys même si ces animaux ont produit la quantité la plus importante d'ovocytes, 42.5 millions, lors du conditionnement. L'analyse statistique indique qu'il n'existe pas de différences significatives entre les conditions testées pendant le premier conditionnement. Concernant les conditionnements après la période froide, on constate que les huîtres nourries ont produit significativement plus d'ovocytes ($P < 0.05$) que les animaux non nourris, avec un avantage aux individus provenant de la baie des Veys. Entre les huîtres non nourries aucune différence significative n'existe entre les lots (*Fig. VI – 18*).

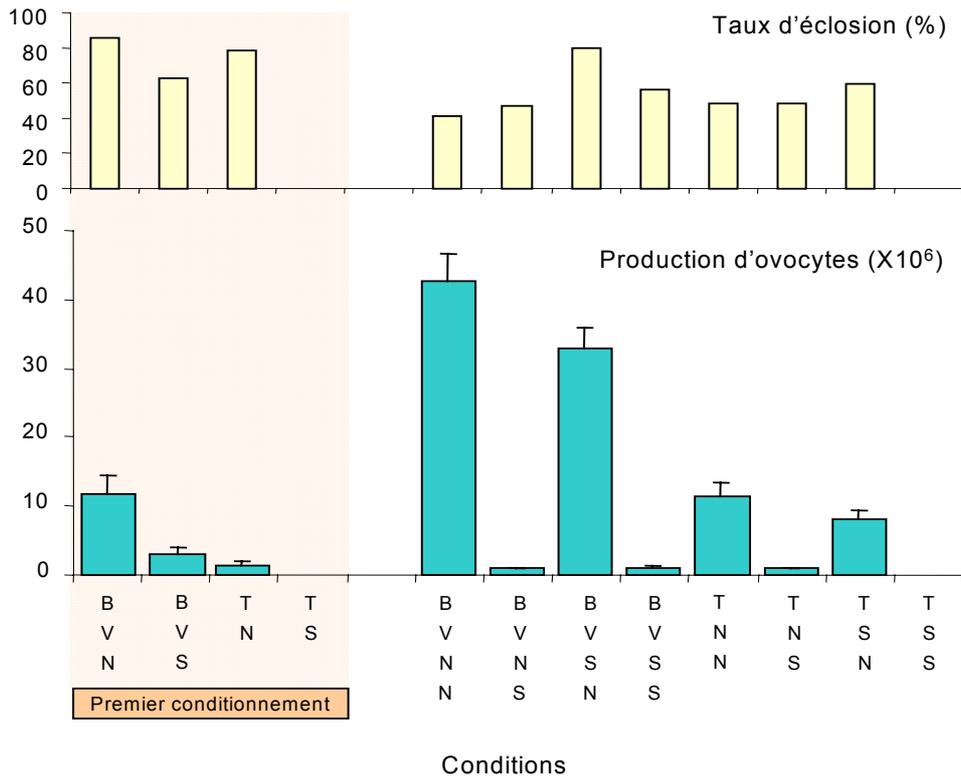


Fig. VI – 17. Production d'ovocytes et taux d'éclosion de larves « D » des huîtres conditionnées en février – mars 2000 (premier conditionnement) et après la période à 10 °C. BV – Baie des Veys, T – La Tremblade, N – nourries et S – non nourries.

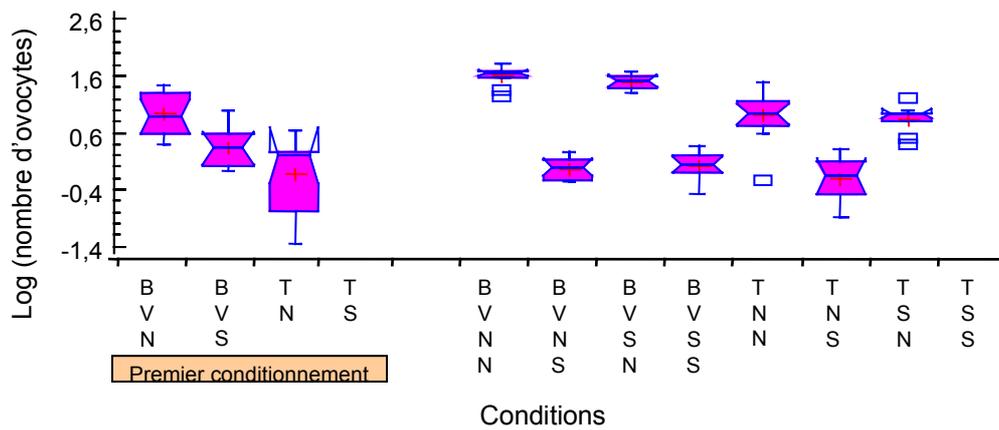


Fig. VI – 18. Production d'ovocytes des huîtres conditionnées en février – mars 2000 (premier conditionnement) et après la période à 10 °C. BV – Baie des Veys, T – La Tremblade, N – nourries et S – non nourries.

Discussion

Au début de cette étude, en février 2000, nous avons observé des ovocytes en « début de gamétogenèse » et en « vitellogenèse » dans les deux lots examinées. Ces résultats sont similaires à ceux observés pendant l'année 1999 pour le lot de la baie des Veys. Cependant, la présence d'ovocytes en « vitellogenèse » dans les huîtres de La Tremblade ne coïncide pas avec les résultats de l'année précédente (voir chapitre V). Lango-Reynoso (1999) indique la présence d'ovocytes en « vitellogenèse » dans une population de Marennes-Oléron à la fin du mois de février (1998). Cette auteur signale que dans une même population, d'une année à l'autre, il existe une variation temporelle liée aux changements des conditions environnementales au niveau de l'initiation et du déroulement de la gamétogenèse. Cela peut indiquer que les huîtres de La Tremblade pouvaient avoir démarré leur gamétogenèse plus tôt dans l'année, probablement grâce à une température plus élevée dans le site ostréicole à cette époque. Néanmoins, même si en février on trouve des proportions similaires d'ovocytes en « vitellogenèse » dans les deux lots étudiées, les résultats observés lors du premier conditionnement indiquent des proportions inférieures d'ovocytes « matures » dans les huîtres de La Tremblade dans les deux conditions testées (avec et sans nourriture). Nous avons mis en évidence que les huîtres de l'ouest et du nord de la France (lots de baie des Veys et de l'Aber Benoît) commencent leur gamétogenèse plus tôt dans l'année par comparaison avec autres lots situées plus au sud (Baden, Bouin, La Tremblade et Arcachon). Nous considérons également que la température de l'eau n'est pas l'unique facteur qui régule la reprise de la gamétogenèse chez *C. gigas*, et que les différences observées entre ces lots sont dues à la présence d'un stock plus important de réserves dans les huîtres plus au nord (voir chapitre V). Nos observations coïncident avec celles de Barber et Blake (1983) pour *Argopecten irradians* aux USA. Ces auteurs signalent que le démarrage de la gamétogenèse chez cette espèce dépend principalement de la disponibilité en nourriture puisque les lots du sud initient leur développement

gamétogénétique plus tard dans l'année que les animaux situés au nord. Barber *et al.* (1991) indiquent que si les différences concernant le début de la gamétogenèse entre des populations proches ne sont pas d'origine génétique, les facteurs environnementaux sont alors les responsables de la régulation de la gamétogenèse. Au vue de nos résultats, nous confirmons que les différences détectées dans cette étude ne sont pas d'origine génétique puisque tant les huîtres de la baie des Veys que celles de La Tremblade ont été collectées dans le bassin d'Arcachon et puis transférées aux sites d'exploitation.

Les observations précédentes se confirment tout au long des expériences testées dans notre étude (conditions 1, 2, 3 et 4). Nous avons constaté que les huîtres de la baie des Veys développent des ovocytes jusqu'au stade de maturité pendant la période à 10 °C avec nourriture (BVNN et BVNS), et que ces mêmes animaux produisent des ovocytes en « vitellogenèse » durant la phase à froid sans nourriture (BVSN et BVSS). Par contre, les huîtres de La Tremblade n'arrivent qu'à produire des ovocytes en « vitellogenèse » dans la condition avec nourriture (phase froide), et dans la condition sans nourriture (TSS) ces animaux restent bloqués en « début de gamétogenèse ». Ces observations peuvent indiquer que même si on prolonge les conditions d'hiver, c'est à dire une basse température et une quantité de nourriture faible, voire inexistante, les huîtres de la baie des Veys dans la condition sans nourriture continuent leur gamétogenèse jusqu'au stade de « vitellogenèse » en utilisant leur stock de réserves. A l'inverse, les huîtres de La Tremblade requièrent un supplément alimentaire pour redémarrer leur développement gamétogénétique sous ces mêmes conditions. Deslous-Paoli *et al.* (1982) avaient signalé un affaiblissement de l'état physiologique des huîtres de Marennes-Oléron à la fin de l'hiver avec en plus, un déficit en glucides, en protéines et même en lipides durant le printemps. Ces résultats suggèrent que les huîtres de La Tremblade n'arrivent pas à créer un stock de réserves important en automne et en hiver, et que leurs besoins énergétiques pendant le déroulement de la gamétogenèse sont probablement assurés par les blooms phytoplanctoniques printaniers.

Lubet (1976) indique que la reprise de l'activité sexuelle chez *Mytilus edulis* et *M. galloprovincialis* ne semble pas dépendre des conditions thermiques. Ce même auteur

souligne que des observations effectuées sur *C. gigas* et *Ostrea edulis* des côtes de la Manche confirment les résultats précédents. Il note que la reprise de l'activité génitale coïncide avec les plus basses températures hivernales (8 – 9 °C). Il semble que ces données soient valables pour les huîtres de la baie des Veys. Ces résultats semblent démontrer que, dans le cas des animaux de La Tremblade, s'il existe une quantité suffisante de nourriture pour fabriquer des réserves, ceux-ci sont capables d'initier leur développement ovocytaire sans avoir besoin d'une montée en température. Cependant, nous avons observé que les huîtres de ce lot mises en conditionnement sans nourriture en février, réagissent à la stimulation thermique en démarrant leur gamétogenèse. Lubet (1976) émet aussi l'hypothèse que la reprise de l'activité génitale est sous la dépendance d'une horloge interne neuroendocrinienne qui détermine le démarrage et l'amplitude du cycle sexuel, et que cette horloge pourrait être modifiée par des facteurs externes parmi lesquels la température jouerait le rôle essentiel. Cependant les résultats de notre étude indiquent qu'à part la température, la reprise de la gamétogenèse est sous la dépendance du stock de réserves accumulées l'année précédente. On peut donc émettre l'hypothèse que si l'initiation de la gamétogenèse est bien sous la dépendance de la température, le développement des gamètes ne continuera qu'après constitution d'un stock minimum de réserves dans les conditions de basse température. Thompson *et al.* (1996) indiquent que la provision de nourriture semble être moins critique une fois qu'une quantité minimale de réserves est accumulée dans la gonade des bivalves. Quelques études ont mis en évidence une variation site – spécifique du cycle de la gamétogenèse associée à des adaptations phénotypiques aux variations locales de la disponibilité de nourriture (MacDonald et Thompson, 1988). Ainsi, la reprise de la gamétogenèse de *C. gigas* semble répondre à la disponibilité de nourriture et à une température minimale spécifique pour chaque lot qui peut varier suivant la situation géographique. Nous pouvons donc considérer que cette température minimale spécifique se situe entre 8 et 9 °C pour les huîtres en provenance de la baie des Veys, en accord avec les observations de Lubet (1976), et éventuellement une température supérieure pour les animaux de La Tremblade en considérant leur situation géographique.

Dans nos expériences l'initiation de la gamétogenèse est accompagnée de variations de la composition biochimique de la chair et de la gonade des huîtres car les animaux étudiés, subissent un stress lors de leur transfert, avec en plus une privation de nourriture et une température hivernale de 10 °C. Les variations les plus importantes sont observées au niveau des protéines, qui augmentent dans toutes les conditions et cela pour les deux lots. L'augmentation de la teneur en protéines dans la chair des huîtres pourrait correspondre à une mise en réserve au moment de la reprise de la gamétogenèse. Heude-Berthelin (2000) signale une augmentation du taux de protéines dans la gonade de *C. gigas* en mars au moment de la vitellogenèse chez les individus femelles. Nous avons observé qu'une fois les huîtres mises en conditionnement la teneur en protéines augmente de manière très significative dans la gonade et cela pour les deux lots dans les conditions avec nourriture. Il semble que lorsque les huîtres ont été maintenues à 10 °C, elles peuvent stocker des protéines dans leur tissus et une fois que la température s'élève, elles dirigent ces protéines vers la gonade. Ceci expliquerait l'évidente diminution du taux de protéines dans la chair des animaux de la baie des Veys pendant les conditionnements. Cependant, l'augmentation de la teneur en protéines a continué dans la chair des huîtres de La Tremblade pendant les conditionnements avec nourriture. Il semble que les besoins nutritionnels en protéines pour la gamétogenèse des huîtres de La Tremblade sont inférieurs à ceux des animaux de la baie des Veys. Ceci paraît cohérent en considérant les conditions de faible nourriture dans lesquelles se trouvent ces animaux dans la nature. Les observations antérieures semblent également indiquer que la mise en réserve se déroule à une basse température et que la mobilisation des réserves se produit une fois que la température s'élève. Heude-Berthelin (2000) a constaté que les constituants biochimiques augmentent légèrement dans la glande digestive de *C. gigas* de janvier à mars et ensuite, avec l'élévation de température au printemps, les quantités de protéines et lipides augmentent significativement dans la gonade.

Le taux de glucides augmente dans la chair chez des huîtres de la baie des Veys pendant la première moitié de la période à 10 °C dans toutes les conditions, cependant, il diminue dans la seconde moitié de la période à froid. Dans les conditions avec nourriture, le taux de

glucides augmente aussi dans la gonade pendant la seconde moitié de la phase à froid. Il semble que les glucides sont mobilisés vers la gonade à ce moment là. Cependant, pendant les conditionnements, le contenu de glucides diminue tant dans la gonade que dans la chair des huîtres. Ces résultats peuvent indiquer que les glucides ont été utilisés comme support énergétique de la gamétogenèse pour les animaux de la baie des Veys. Heude-Berthelin (2000) rapporte une diminution constante du contenu en glucides de la gonade et du manteau de *C. gigas* pendant la gamétogenèse. Cette diminution serait due à leur utilisation comme base énergétique de la gamétogenèse. Li *et al.* (2000) signalent également que le contenu du glycogène dans la gonade de *C. gigas* diminue pendant la maturation des gamètes. Néanmoins, le contenu en glucides ne présente pas de variations importantes chez les huîtres de La Tremblade, et les variations les plus grandes sont celles des protéines dans la chair et dans la gonade de ces huîtres. Whyte *et al.* (1990) signalent que les protéines contribuent plus que les glucides pour les processus métaboliques des huîtres maintenues en conditions trophiques défavorables. Ceci pourrait signifier que les protéines sont la principale source d'énergie pour la gamétogenèse chez les huîtres de La Tremblade qui possédaient à leur arrivée au laboratoire un faible stock de réserves.

Nous n'avons pas observé de variations importantes des constituants biochimiques chez les huîtres privées de nourriture au cours des expériences. Il semble que les huîtres maintenues à jeun utilisent leur stock de réserves pour maintenir leur métabolisme de subsistance au lieu de la gamétogenèse. Sastry (1968) note le même comportement chez *Aequipecten irradians* maintenu en conditions pauvres de nourriture. Whyte *et al.* (1990) maintiennent des huîtres *C. gigas* privées de nourriture pendant 400 jours et constatent une perte significative de lipides, glucides et protéines dans tous les tissus étudiés après les 100 premiers jours de l'expérience. Les résultats de notre étude où les huîtres ont été exposées aux conditions expérimentales pendant 110 jours sont en accord avec ces observations.

Les résultats en termes de contenu des constituants biochimiques pendant les conditionnements montrent une variation importante en ce qui concerne les protéines et les lipides. On observe chez les huîtres nourries, des deux lots, une augmentation du contenu

de protéines et lipides dans la gonade durant le conditionnement, tandis que dans les conditionnements sans nourriture, ces constituants restent sans variations importantes dans cet organe. Chez les huîtres nourries de la baie des Veys, cette augmentation de protéines et lipides dans la gonade coïncide avec une diminution des ces mêmes constituants dans les autre tissus. En revanche, chez les individus de La Tremblade, le contenu de protéines augmente en parallèle dans la chair et les lipides restent sans variation pendant la période des conditionnements. Ces résultats suggèrent des voies différentes d'utilisation des réserves entre les deux lots testés : les huîtres de la baie des Veys ayant un stock plus important de réserves mobilisent les protéines et les lipides des tissus de réserve vers la gonade avec la stimulation de la température, les animaux de La Tremblade ayant un stock faible de réserves, mobilisent aussi ces constituants vers la gonade mais en même temps accumulent des protéines dans les tissus de réserve. Cette réponse semble refléter une adaptation aux conditions pauvres de nourriture que les huîtres supportent normalement dans leur site d'origine. Ce qui signifie que les animaux couvrent leurs besoins énergétiques pour la gamétogenèse et en même temps accumulent des réserves qui seront utilisées pour assurer le développement des gamètes en conditions défavorables.

Par ailleurs, les huîtres qui ont été alimentées pendant le conditionnement sont celles qui ont produit la plus grande quantité d'ovocytes lors des expériences de scarification et cela pour les deux lots. Des résultats similaires concernant la production d'œufs ont été trouvés par Robinson (1992) chez *C. gigas* conditionnée avec et sans nourriture ; les huîtres maintenues en conditions de jeûne produisent substantiellement moins d'œufs que celles conditionnées avec nourriture. Ces observations nous indiquent que la quantité d'ovocytes produits sous nos conditions expérimentales semble dépendre du supplément de nourriture fourni pendant le conditionnement puisque les huîtres alimentées pendant la phase à 10 °C, mais conditionnées sans nourriture, ont produit significativement moins d'ovocytes que les individus conditionnés avec nourriture, mais maintenus sans aliment durant la période à froid. Ces considérations sont aussi valables pour les huîtres de la baie des Veys où la reprise de la gamétogenèse est détectée à partir de la seconde moitié de la phase à 10 °C

dans les deux conditions (avec et sans nourriture). D'autre part, nous avons remarqué que la production d'ovocytes est significativement inférieure dans les huîtres nourries des deux lots conditionnées en février – mars (BVN et TN), par rapport à celle des animaux conditionnés avec de la nourriture dans les conditions 1 et 3 (BVNN, BVSN et TNN, TSN respectivement). Si on considère que les huîtres dans les conditions 1 et 3 ont été maintenues 60 jours à la même température que celle du début de l'expérience, la différence en termes de production d'ovocytes pourrait indiquer que pendant la phase froide les animaux continuent leurs multiplications ovogoniales avec ou sans l'influence de la nourriture. Il serait intéressant d'étudier les changements au niveau cellulaire et d'essayer de quantifier les multiplications des ovogonies sous ces mêmes conditions expérimentales.

Le Pennec *et al.* (1990) montrent que l'indice lipidique des ovocytes est corrélé de façon très significative avec les paramètres de l'élevage larvaire à 2 jours. Ces mêmes auteurs soulignent que les taux d'éclosion et les taux d'anomalies des prodissoconques I sont très fortement liés à l'indice de lipides moyen : plus les ovocytes sont riches en lipides, plus cette ponte fournira un élevage larvaire de bonne qualité à 2 jours. Nous avons observé que les lipides s'accumulent dans la gonade des huîtres conditionnées avec nourriture et que ces animaux produisent une quantité plus élevée d'ovocytes que les individus non nourris, cependant les taux d'éclosion de ces deux groupes d'huîtres sont tout à fait similaires. Muranaka et Lannan (1984) observent une fécondité plus élevée des huîtres conditionnées avec nourriture que pour celles conditionnées sans aliment. Néanmoins, les résultats de notre étude ne montrent pas de différences importantes concernant les taux d'éclosion entre les lots nourris et non nourris. Au contraire, le taux le plus bas correspond à celui des huîtres dans la condition avec nourriture pendant la phase à 10 °C et alimentées durant le conditionnement. Ces résultats nous suggèrent que les réserves lipidiques des huîtres maintenues à jeun se maintiennent malgré l'absence d'un apport supplémentaire de nourriture artificielle et que dans ces animaux, même s'il existe peu d'ovocytes, ces gamètes seront à l'origine d'un élevage larvaire de bonne qualité à 2 jours. En conséquence, la qualité des ovocytes semble liée non seulement à la qualité de la nourriture fournie durant les

expérimentations, mais également à celle des réserves accumulées durant leur séjour dans la nature.

Conclusion

Nous avons observé des différences significatives entre les huîtres de la baie des Veys et de La Tremblade concernant leurs réponses aux conditions expérimentales. Les animaux de la baie des Veys initient leur gamétogenèse à 10 °C et en conditions d'absence de nourriture, les huîtres nourries, arrivent à produire des ovocytes matures à la fin de la période à froid. En revanche, les animaux en provenance de La Tremblade, dans la condition sans nourriture et à 10 °C, ne commencent leur gamétogenèse qu'une fois que la température augmente, néanmoins, les huîtres nourries initient leur croissance gamétique au cours de la phase à froid. On considère que ces différences sont dues à la présence d'un stock plus importante de réserves dans les huîtres de la baie des Veys. Cependant, il semble que s'il existe une quantité suffisante de nourriture pour fabriquer un stock de réserves, les huîtres sont capables d'initier leur développement ovocytaire sans avoir besoin d'une montée en température, et la reprise de l'activité génitale coïncide avec les plus basses températures hivernales. Ainsi, la reprise de la gamétogenèse de *C. gigas* semble répondre à deux facteurs environnementaux ; la disponibilité de nourriture et une température minimale spécifique pour chaque lot qui peut varier selon à la situation géographique.

Au niveau des constituants biochimiques, le départ de la gamétogenèse est accompagné de variations de ces composants dans la gonade et les autres tissus. Les huîtres de la baie des Veys ayant un stock plus important de réserves utilisent les glucides comme support de la gamétogenèse tandis que les animaux de La Tremblade, à part les glucides, utilisent leurs protéines comme source principale de support pour le développement des ovocytes. On

considère que les animaux de La Tremblade n'arrivent pas à former un stock important de réserves pendant l'automne et l'hiver et que leur gamétogenèse dépend en grand partie des nutriments apportés par les blooms printaniers.

Nous constatons que les huîtres nourries pendant la période à 10 °C, mais conditionnées sans nourriture, produisent significativement moins d'ovocytes que les animaux maintenus à jeun pendant la phase froide, mais conditionnés avec nourriture. Il semble donc que la quantité d'ovocytes produits en conditions artificielles dépende de la nourriture offerte pendant leur conditionnement. Cependant, la qualité des ovocytes semble liée principalement à la quantité et la qualité des réserves accumulées dans la nature. Enfin, en ce qui concerne les observations de l'évolution de la gamétogenèse pendant la phase froide, il serait intéressant de refaire des expériences similaires à celles réalisées pour cette étude de manière à examiner et déterminer l'intensité des multiplications des ovogonies pendant cette période.

Conclusion générale

Les résultats de cette étude nous permettent de fournir des réponses à plusieurs interrogations concernant différents aspects de la reproduction de *C. gigas* exposé aux conditionnements expérimentaux et, également, de contribuer à mieux connaître la biologie de cette espèce.

Un des aspects qui présentait le plus d'intérêt pour les professionnels des écloséries était de savoir s'il était possible de produire des ovocytes et des larves viables pendant la période de « repos sexuel » de *C. gigas*. Nous avons pu démontrer que l'horloge interne qui régule la gamétogenèse chez cette espèce peut être modifiée par l'influence de facteurs du milieu, en particulier par la température. De cette façon, la production d'ovocytes et de larves viables est possible pendant la période de ralentissement du cycle sexuel si les huîtres sont exposées à une accélération de la variation de la température de manière à créer les conditions hivernales en octobre et de retrouver des conditions estivales en décembre. Nous avons remarqué que la reprise de la gamétogenèse se produit lorsque la température se trouve encore dans une phase décroissante, approximativement à 12 °C. Nous avons également trouvé qu'apparemment, la photopériode n'exerce pas un rôle majeur sur la reprise de l'activité gamétique chez *C. gigas*. Néanmoins, des études complémentaires doivent être entreprises pour déterminer l'influence réelle de ce paramètre sur la gamétogenèse de cette espèce.

Nous avons étudié différents lots d'huîtres situées sur la côte atlantique française, de la baie des Veys en Normandie jusqu'au bassin d'Arcachon en Aquitaine. Nous avons observé que ces bivalves présentent une adaptation très significative aux conditions environnementales particulières à chaque site de culture, et que cette adaptation n'est pas d'origine génétique puisque les huîtres utilisées dans nos recherches ont toutes été captées dans la même localité (bassin d'Arcachon), pré-élevées dans le golfe de Morbihan et puis transférées dans les divers sites d'exploitation (les animaux que nous avons étudié avaient

séjourné entre 7 et 18 mois sur chaque site). Cette adaptation se traduit également par une réponse différente des lots de chaque région aux expériences de conditionnements en laboratoire. Nous avons remarqué que les animaux du nord de la France, en particulier ceux de la baie des Veys et de l'Aber Benoît, possèdent un stock plus important de réserves par comparaison avec les autres lots étudiés, et que sont ces mêmes huîtres qui ont eu les meilleurs rendements en laboratoire. Il semble que la formation de ce stock de réserves soit due à une disponibilité plus grande de nourriture dans les sites ostréicoles. Cependant, nous considérons qu'il existe une possibilité de recyclage de métabolites dans la gonade de ces huîtres, et que ce phénomène a une influence majeure sur la formation des réserves.

D'autre part, nous avons pu mettre en évidence le rôle des réserves sur le départ de la gamétogenèse, la production d'ovocytes et de larves d'huîtres mises en conditionnement. Les huîtres en provenance de la baie des Veys et de l'Aber Benoît, ayant un stock important de réserves, initient leur gamétogenèse avant les animaux des localités situées plus au sud de la France. Elles présentent les meilleures performances en laboratoire : une proportion plus élevée d'ovocytes matures à la fin des conditionnements et une production plus importante d'ovocytes après la scarification de la gonade. De plus, les huîtres de ces deux lots maintenues sans nourriture pendant les expériences, présentent une évolution de la gamétogenèse identique à celle des animaux nourris sous nos conditions expérimentales. Les variations les plus importantes entre les huîtres maintenues à jeun et celles nourries, concernent la production d'ovocytes, après scarification de la gonade, qui est significativement plus élevée chez les huîtres alimentées. Il semble que la quantité d'ovocytes produits en conditions artificielles dépende directement de la nourriture offerte pendant le conditionnement. Cependant, pour l'élevage larvaire, il n'existe pas de différences significatives des taux de rendement larvaire (larves « D ») entre les lots d'huîtres nourries et non nourries. Il semble que si les animaux du nord sont exposés à des conditions de jeûne complet en laboratoire, leur stock de réserves leur permet d'assurer un élevage larvaire de bonne qualité à 2 jours dans la période décembre - juin. Donc, la qualité des ovocytes semble liée à la quantité et la qualité des réserves accumulées par les huîtres durant leur

séjour en mer. En observant les résultats précédents, on pourrait penser que les huîtres régulent la quantité d'ovocytes en réduisant leur nombre si la nourriture est insuffisante.

En ce qui concerne l'étude biochimique, les résultats montrent que les huîtres de la baie des Veys utilisent les glucides comme support de la gamétogenèse dans les mêmes proportions que celles mentionnées par Heude-Berthelin (2000) et Li *et al.* (2000), tandis que les animaux de La Tremblade mise à part les glucides, utilisent leurs protéines comme source principale pour le développement des ovocytes. On considère, en prenant en compte l'exemple des huîtres de La Tremblade, que les animaux du sud (Bouin, La Tremblade et Arcachon) n'arrivent pas à former un stock suffisant de réserves pendant l'automne et l'hiver pour assurer le développement des gamètes pendant le printemps, et que leur succès de reproduction dépend des nutriments apportés par les blooms printaniers.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Lubet (1976) en ce qui concerne le fait que le départ de la gamétogenèse coïncide avec les plus basses températures hivernales pour les huîtres de la baie des Veys. Ces animaux initient leur gamétogenèse à 10 °C dans conditions expérimentales avec ou sans nourriture. On considère que l'abondance de réserves permet d'avancer la vitellogenèse même à une basse température, mécanisme adaptatif permettant de coloniser les zones plus au nord. Nous avons observé que les huîtres de La Tremblade, avec un faible stock de réserves, initient leur gamétogenèse à 10 °C seulement si elles sont alimentées pendant cette période, par contre les huîtres non nourries de ce lot initient le développement gamétique, même sans un apport de nourriture, une fois que la température commence à monter. Ces observations confirment l'effet du stock de réserves sur la reprise de la gamétogenèse. Celle-ci semble répondre à deux facteurs ; la disponibilité de nourriture et une température minimale spécifique pour chaque lot d'huîtres qui peut varier selon la situation géographique.

Les observations précédentes indiquent que *C. gigas* en France présente un cycle de reproduction flexible qui s'adapte aux différentes conditions environnementales rencontrées dans chaque site d'élevage, et que sont ces conditions qui régulent les entrées et les durées des gamétogenèses. C'est pour cette raison que les huîtres des diverses régions ostréicoles

de France présentent des réponses différentes aux expériences de conditionnement en laboratoire, et cela peut avoir des implications importantes sur la production de juvéniles en écloseries.

Enfin les huîtres de l'Aber Benoît ont retenu toute notre attention. Elles sont situées à la limite nord de l'aire de reproduction de l'espèce, ne se reproduisent pas naturellement et les gamètes sont réabsorbés dans la gonade au cours de l'automne et de l'hiver. Cette caractéristique peut avoir des avantages pour l'aquaculture puisque l'obtention de gamètes et larves viables est possible au laboratoire pendant la période de repos sexuel (Chávez-Villalba *et al.*, 2001, et annexe). Et ceci peut donc prolonger la période de production de naissains dans les écloseries. Les chercheurs de l'IFREMER, conscients de cette possibilité, visent cette zone de production comme un site atelier pour leurs opérations d'aquaculture.

Références bibliographiques

- Abad M., Ruiz C., Martínez D., Mosquera G., Sánchez J.L., 1995. Seasonal variations of lipid classes and fatty acids in flat oyster, *Ostrea edulis*, from San Cibrán (Galicia, Spain). *Comp. Biochem. Physiol.* 110(2):109-118.
- Allen S.K., Bushek D., 1992. Large scale production of triploid oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin) using « stripped » gametes. *Aquaculture* 103:241-251.
- Barber B.J., Getchell R., Shumway S., Schick D., 1988. Reduced fecundity in a deep-water population of the giant scallop *Placopecten magellanicus* in the gulf of Maine, U.S.A., *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 42:207-212.
- Barber B.J., Blake N.J., 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) at its southern distributional limit. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 66:247-256.
- Barber B.J., Blake N.J., 1991. Reproductive Physiology. In: Shumway S.E. (Ed.), *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol. 21. Elsevier, Amsterdam.
- Barber B.J., Ford S.E., Wargo R.N., 1991. Genetic variation in the timing of gonadal maturation and spawning of the Eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Biol. Bull.* 181, 216-221.
- Barillé L., Bougrier S., Geairon P., Robert J.M., 1994. Alimentation expérimentale de l'huître *Crassostrea gigas* à l'aide de navicules bleues *Haslea ostrearia* (Simonsen) de différentes tailles. *Oceanologica Acta* 17(2):201–210.
- Barret J., Chávez-Villalba J., Cochard J.C., Mingant C., 1999. Conditionnement automnal de *Crassostrea gigas*. Journées Conchylicoles IFREMER 1999, Nantes, France.
- Bayne B.L., Gabbott P.A., Widdow J., 1975. Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of *Mytilus edulis* L. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 55:675-689.

- Beninger P.G., Le Pennec M., 1991. Reproductive System. In: Shumway, S.E. (Ed.), Scallops, Biology, Ecology and Aquaculture, Elsevier, Amsterdam.
- Berthelin C., Kellner K., Mathieu M., 2000. Storage metabolism in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in relation to summer mortalities and reproductive cycle (West coast of France). *Comp. Biochem. Physiol.* 125(3):359-369.
- Bligh E.G., Dyer W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Bodoy A., Prou J., Berthomé J.P., 1986. Etude comparative de différents indices de condition chez l'huître creuse (*Crassostrea gigas*). *Haliotis* 15:173-182.
- Breese W.P., Malouf R.E., 1975. Hatchery manual for the Pacific oyster. Oregon State University, Sea Grant College Program (ORESU-H-75-002), Agricultural Experiment Station (Special Report No. 443).
- Brosseau D.J., 1995. Gametogenesis and spawning in intertidal oysters (*Crassostrea virginica*) from Western Long Island sound. *J. Shellfish Res.* 14(2):483-487.
- Cáceres-Martínez C., Ramírez-Filippini D., Chávez-Villalba J., 1990. Cultivo de ostión *Crassostrea gigas* en costales y estantes en la zona de entremareas. In: La acuicultura en México: De los conceptos a la Producción (Ed. UNAM, Instituto de Biología), México.
- Chávez-Villalba J., Mingant C., Cochard J.C., Le Pennec M., 2001a. Gamétogénèse chez l'huître *Crassostrea gigas* de l'Aber Benoît (Bretagne, France), à la limite nord de son aire de reproduction. *Haliotis* 30:1-12. (S'annexe une copie).
- Chávez-Villalba J., Pommier J., Andriamiseza J., Pouvreau S., Barret J., Cochard J.C., Le Pennec M., 2001b. Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: origin and temperature effect. *Aquaculture* (en révision).
- Chevallier H., Granier J., Lucas A., 1975. Mollusques marins des côtes de France commercialisés pour la consommation. *Haliotis* 5:107-118.
- Cochard J.C., 1990. Presentación del cultivo de moluscos en Francia. *Actas del III Congreso Nacional de Acuicultura*: 941–955.

- Cochard J.C., Devauchelle N., 1993. Spawning, fecundity and larval survival and growth in relation to controlled conditioning in native and transplanted populations of *Pecten maximus* (L.): evidence for the existence of separate stocks. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 169:41-56.
- Cochard J.C., 1998. Le conditionnement des reproducteurs en éclosion, l'exemple de la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus*. Atelier Professionnel ENITA-IFREMER. In: "Avancées récentes en reproduction et élevage larvaire des espèces aquacoles", Bordeaux, 7 - 10 août, 120-125.
- Crosby M.P., Gale L.D., 1990. A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. J. Shellfish Res. 9(1):233-237.
- Deridovich I.I., Reunova O.V., 1993. Prostaglandins: Reproduction control in bivalve molluscs. Comp. Biochem. Physiol. 104(1):23-27.
- Devauchelle N., Mingant C., 1991. Review of the reproductive physiology of the scallop, *Pecten maximus* applicable to intensive aquaculture. Aquat. Living Resour. 4:41-51.
- Devauchelle N., Barret J., Salaun G., 1995. La reproduction naturelle et contrôlée des bivalves cultivés en France. Rapport IFREMER/DRV/RA/RST/97-11.
- Dinamani P., 1987. Gametogenic patterns in populations of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Northland, New Zealand. Aquaculture 64:65-76.
- Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P., Smith F., 1956. Colorimetric method for determinations of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350-356.
- Dupuy J.L., Windsor N.T., Sutton C.E., 1977. Manual for design and operation of an oyster seed hatchery. Special Report. Applied Sci. Ocean Eng., Va. Inst. Mar. Sci., VIMS, Gloucester Point, VA (USA).
- Emmett B., Thompson K., Popham J.D., 1987. The reproductive and energy storage cycles of two populations of *Mytilus edulis* (Linne) from British Columbia. J. Shellfish Res. 6(1):29-36.

- Epifanio C.E., Valenti C.C., Turk C.L., 1981. A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster, *Crassostrea virginica*. *Aquaculture* 23:347-353.
- FAO, 1998. FAO organization (fisheries – statistics). (Site internet ; <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>)
- Fleury P.G., Cornette F., Claude S., Palvadeau H., Ropert S., d'Amico F., Vercelli C., Chabirand J.M., 1999. Réseau du suivi de la croissance de l'huître creuse sur les côtes françaises. REMORA – Résultats des stations nationales. Rapport IFREMER (DRV/RA/RST/00-16).
- Frías-Espericueta, M., Páez-Osuna, F., Osuna-López, J., 1997. Seasonal changes in the gonadal state of the oysters *Crassostrea iridescens* and *Crassostrea corteziensis* (Filibranchia: Ostreidae) in the Northwest coast of México. *Rev. Biol. Trop.* 45(31):1061-1065.
- Gabbott P.A., 1975. Storage cycles in marine bivalves molluscs. A hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis. *Proc. Eur. Mar. Biol. Sym.*, 9th Oban, Scotland:191-211.
- Gallager S.M., Mann R., 1986. Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture* 56:105-121.
- Gouletquer P., Joly J.P., Gérard A., Le Gagneur E., Moriceau J., Peignon J.M., Heurtebise S., Phelipot P., 1996. Performance of triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) reared in high carrying capacity ecosystem: survival, growth and proximate biochemical composition. *Haliotis* 25:1–12.
- Gouletquer P., Héral M., 1997. Marine molluscan production trends in France: From fisheries to aquaculture. In: U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Rep. NMFS 129.
- Goyard E., 1996. Bilan national de la croissance de l'huître creuse de 1993 à 1995. Rapport IFREMER.

- Goyard E., 1997. Réseau du suivi de la croissance de l'huître creuse sur les côtes françaises. REMORA – Résultats Nationaux. Rapport Interne DRV-IFREMER, France.
- Grant A., Tyler P.A., 1983a. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. I. Introduction and statistical analysis of gonad indices and maturity indices. *Inter. J. Invertebr. Reprod.* 6:259-269.
- Grant A., Tyler P.A., 1983b. The analysis of data in studies of invertebrate reproduction. II. The analysis of oocytes size/frequency data, and comparison of different types of data. *Inter. J. Invertebr. Reprod.* 6:271-283.
- Grizel H., Héral M., 1991. Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J. Conseil.* 47:339-403.
- Gruffydd L.L., Beaumont R.A., 1982. A method for rearing *Pecten maximus* in laboratory. *Mar. Biol.* 154:350-355.
- Héral M., Deslous-Paoli J.M., Prou J., 1986. Dynamiques des productions et des biomasses des huîtres creuses cultivées (*Crassostrea angulata* et *Crassostrea gigas*) dans le bassin de Marennes-Oléron depuis un siècle. *CIEM C.M.* 1986/F:41.
- Heude-Berthelin C., 2000. Etude du métabolisme du glycogène chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Impact sur la reproduction et les mortalités estivales. Thèse de Doctorat, Université de Caen, France.
- Himmelman J.H., 1999. Spawning, Marine Invertebrates. In: *Encyclopedia of Reproduction* (Vol 4), Academic Press.
- His H., 1984. Développement et survie larvaire chez *Crassostrea gigas*. Réunion "Déterminisme du Recrutement" - I.S.T.P.M., Nantes, 2-4 juillet, Contribution n° 44
- Holland D.L., Spencer B.E., 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 53:287-298.
- Hughes-Games W.L., 1977. Growing the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) in subtropical sea water fish ponds. I. Growth rate, survival and quality index. *Aquaculture* 11:217-229.

- Jonassen T.M., Imsland A.K., Kadokawi S., Stefansson S.O., 2000. Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquac. Resear.* 31(20):219-227.
- Kennedy A.V., Battle H.I., 1964. Cyclic changes in the gonad of the American oysters, *Crassostrea virginica* (Gmelin). *Can. J. Zool.* 42:305-321.
- Korringa P., 1976. Farming the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Willapa Bay, Washington, U.S.A. In: Farming the cupped oysters of the genus *Crassostrea*; Development in aquaculture and fisheries. Elsevier.
- Lango-Reynoso F., 1999. Détermination de la sexualité chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Cochard J.C., Le Pennec M., 2000. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 190:183-199.
- Lannan J.E., Robinson A., Breese W.P., 1980. Broodstock management of *Crassostrea gigas* II. Broodstock conditioning to maximize larval survival. *Aquaculture* 21:337-345.
- Le Pennec M., Gueguen F., Cochard J.C., Paulet Y.M., Dorange G., 1990. Relations entre le contenu lipidique des ovocytes de *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve) et les performances des larves en élevage. *Haliotis* 10:101-113.
- Le Pennec M., Beninger P.G., Dorange G., Paulet Y.M., 1991. Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia : Pectinidae). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 71:451-463.
- Le Pennec, M., 1997. Les écloséries de mollusques bivalves: mode d'emploi. *Bull. Aquac. Ass. Can.* 3:31-37.
- Le Pennec M., Robert R., Avendaño M., 1998. The importance of gonadal development on larval production in pectinids. *J. Shellfish Res.* 17(1):97-101.
- Le Pennec G., Le Pennec M., Beninger P.G., 2001. Seasonal digestive gland dynamics of the scallop *Pecten maximus* L. in the Bay of Brest (France). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 18:3743-3752.

- Li Q., Osada M., Mori K., 2000. Seasonal biochemical variations in Pacific oyster gonadal tissue during sexual maturation. *Fish. Sci.* 66:502-508.
- Loosanoff V., Davis H.C., 1952. Delaying spawning of lamellibranchs by low temperature. *J. Mar. Res.* 10(2):197-202.
- Loosanoff V., Davis H.C., 1963. Rearing of bivalve molluscs. *Adv. Mar. Biol.* 1:1-136.
- Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randal. R., 1951. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Lubet P., 1976. Ecophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches. *Haliotis* 7, 49-55.
- Lubet P., Allarakh C., 1994. Stratégie de reproduction de l'huître *Saccostrea cucullata* (Born) à l'île Maurice. Comparaison avec d'autres secteurs de l'aire de répartition. *Haliotis* 23:61-69.
- Lucas A., 1982. La nutrition des larves de bivalves. *Océanis* 8(5):363-388.
- MacDonald B.A., Thompson R.J., 1988. Intraspecific variation in growth and reproduction in latitudinally differentiated populations of the giant scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *Biol. Bull.* 175:36-371.
- Macdonald P.D., Green P.E., 1988. User's guide to program MIX: An Interactive Program for fitting mixture of distributions. ICHTHUS DATA SYSTEMS.
- Mann R., 1979. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 59:95-110.
- Mann R., 1983. The role of introducing bivalve mollusk species in mariculture. *J. World Maricult. Soc.* 14:546-559.
- Martínez G., Aguilera C., Mettifogo L., 2000. Interactive effects of diet and temperature on reproductive conditioning of *Argopecten purpuratus* broodstock. *Aquaculture* 183:149-159.
- Martoja R., Martoja-Pearson M., 1967. Initiation aux techniques d'histologie animale. Mason et Cie, Paris.

- Mason J., 1958. The breeding of the scallop, *Pecten maximus* (L.), in Man waters. J. Mar. Biol. Assoc. UK. 37:653-671.
- Morales-Alamo R., Mann R., 1989. Anatomical features in histological sections of *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) as an aid in measurement of gonad area for reproductive assessment. J. Shellfish. Res. 8(1):71-82.
- Muranaka M.S., Lannan J.E., 1984. Broodstock management of *Crassostrea gigas*: environmental influences on broodstock conditioning. Aquaculture 39:217-228.
- Pastoureaud A., Héral M., Prou P., Razet D., Russu P., 1996. Particle selection in the oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) studied by pigment HPLC analysis under natural food conditions. Oceanologica Acta 19(1):79-88.
- Paulet Y.M., 1990. Rôle de la reproduction dans le déterminisme du recrutement chez *Pecten maximus* (L.) de la Baie de Saint-Brieuc. Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Paulet Y.M., Dorange G., Cochard J.C., Le Pennec M., 1992. Reproduction et recrutement chez *Pecten maximus* L. Annal. Inst. Océan. 68(1-2):45-64.
- Quayle D.B., 1969. Pacific oyster culture in British Columbia. J. Fish. Res. Board. Can. 169:1-192.
- Ramírez-Filippini D., Chávez-Villalba J. Cáceres-Martínez C., 1990. Cultivo de ostión en costales sobre estantes en la zona intermareal en la Bahía de La PAZ, B.C.S: Estudio comparativo de crecimiento y resistencia con el cultivo en suspensión. In: La acuicultura en México: De los conceptos a la Producción (Ed. UNAM, Instituto de Biología), México.
- Robert R., Trintignac P., 1997. Microalgues et nutrition larvaire en éclosion de mollusques. Haliotis 26:1-13.
- Robert R., Gérard A., 1999. Bivalve hatchery technology: The current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France. Aquat. Living Resour. 12(2):121-130.

- Robinson A., 1992. Dietary supplements for reproductive conditioning of *Crassostrea gigas* kumamoto (Thunberg). I. Effects on gonadal development, quality of ova and larvae through metamorphosis. J. Shellfish Res. 11(2):437-441.
- Ropert M., 1999. Etude des mortalités ostréicoles de l'hiver 1998/1999 en Baie des Veys. Rapport d'Etude. Convention Région / IFREMER (N° 079419).
- Ruiz C., Abad M., Sedano F., Garcia-Martin L.O., Sánchez-López J.L., 1992. Influence of seasonal environmental changes on the gamete production and biochemical composition of *Crassostrea gigas* (Thunberg) in suspended culture in El Grove, Galicia, Spain. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 155:249-262.
- Ruiz-Durá M.F., 1974. Estudio histológico comparativo de los ciclos gonádicos de *Ostrea corteziensis* Hertlein, *Crassostrea virginica* Gmelin, *Crassostrea iridescens* Hanley. Subsecret. Pesc. SE. 18:128-138.
- Saout C., Quéré C., Donval A., Paulet Y.M., Samain J.F., 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest (France). Aquaculture 172:301-314.
- Sastry A.N., 1968. The relationships among food, temperature, and gonad development of the bay scallop *Aequipecten irradians* Lamark. Physiol. Zool. 41:44-53.
- Sastry A.N., 1979. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: Giese J.C., Pearse J.S., (Eds), Reproduction of Marine Invertebrates, Vol. 5. Academic Press, New York.
- Sauriau P.G., Merceron M. Gouletquer P., 1997. Aquaculture marine et littorale. In: Les biocénoses marines et littorales françaises des côtes Atlantique, Manche et Mer du Nord. Synthèse, Menaces et Perspectives (Ed. Dauvin J.C.). Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.
- Shatkin G., Shumway S.E., Hawes R., 1997. Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: A review of a global experience. J. Shellfish Res. 16(2):463-477.

- Soletchnik P., Razet D., Geairon P., Faury N., Gouletquer P., 1997. Ecophysiologie de la maturation sexuelle et de la ponte de l'huître creuse *Crassostrea gigas*: réponses métaboliques (respiration) et alimentaires (filtration, absorption) en fonction des différentes stades de maturation. *Aquat. Living Resour.* 10:177–185.
- Soletchnik P., Faury N., Razet D., Gouletquer P., 1998. Hydrobiology of the Marennes-Oléron bay. Seasonal indices and analysis of trends from 1978 to 1995. *Hydrobiologia* 386:131–146.
- Snedecor G.W., Cochran W.S., 1972. *Statistical methods*. Iowa State College Press, Ames.
- Steele, S., 1998. The reproductive biology of the Pacific oysters. PhD Thesis, University of Cork, Ireland.
- Thompson R.J., MacDonald B.A., 1990. The role of environmental conditions in the seasonal synthesis and utilisation of biochemical energy reserves in the giant scallop, *Placopecten magellanicus*. *Can. J. Zool.* 68:750-756.
- Thompson R.J., Newell R.I.E., Kennedy V.S., Mann R., 1996. Reproductive processes and early development. In: Kennedy V.S., Newell R.I.E., Eble, A.F. (Eds.), *The Eastern Oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant Book, USA.
- Utting S.D., Millican P.F., 1997. Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstock and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture* 155:45-54.
- Waldock M.J., Nascimento I.A., 1979. The triacylglycerol composition of *Crassostrea gigas* larvae fed on different algal diets. *Mar. Biol. (Letters)* 1:77-86.
- Waldock M.J., Holland D.L., 1984. Fatty acid metabolism in young oysters, *Crassostrea gigas*: Polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 19(5):332-336.
- Walne P.R., Mann R., 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In: Barnes H. (ed.), *Ninth European Marine Biology Symposium*, Aberdeen University Press, Scotland.

- Whyte J.N.C., Englar J.R., Carswell B.L., Medic K.E., 1986. Influence of starvation and subsequent feeding on body composition and energy reserves in the prawn *Pandalus platyceros*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43:1142-1148.
- Whyte J.N.C., Bourne N., Hodgson C.A., 1987. Assessment of biochemical composition and energy reserves in larvae of the scallop *Patinopecten yessoensis*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 113:113-124.
- Whyte J.N.C., 1988. Fatty acids profiles from direct methanolysis of lipids in tissue of cultured species. Aquaculture 75:193-203.
- Whyte J.N.C. Bourne N., Hodgson C.A., 1989. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. Aquaculture 78:333-347.
- Whyte J.N.C. Bourne N., Hodgson C.A., 1990a. Nutritional condition of rock scallop, *Crassodoma gigantea* (Gray), larvae fed mixed algal diet. Aquaculture 86:25-40.
- Whyte J.N.C. Englar J.R., Carswell B.L., 1990b. Biochemical composition and energy reserves in *Crassostrea gigas* exposed to different levels of nutrition. Aquaculture 90:157-172.
- Whyte J.N.C., Bourne N., Ginther N.G., 1990c. Biochemical and energy changes during embryogenesis in the rock scallop *Crassodoma gigantea*. Mar. Biol. 106:239-244.
- Whyte J.N.C., Bourne N., Ginther N.G., 1991. Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 149:67-79.
- Whyte J.N.C., Bourne N., Ginther N.G., Hodgson C.A., 1992. Compositional changes in the larvae to juvenile development of the scallop *Crassodoma gigantea* (Gray). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 163:13-29.
- Wilson J., 1981. Hatchery rearing of *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. Aquaculture technical bulletin. National Board for Science and Technology report, Ireland.

Wilson J.A., Chaparro O.R., Thompson R.J., 1996. The importance of broodstock nutrition on the viability of larvae and spat in the Chilean oyster *Ostrea chilensis*. *Aquaculture* 139:63-75.

Yakovlev Y.M., 1977. Reproductive cycle of the Pacific oyster in the sea of Japan. *Biolog. Morya* 3:85-87.