

## CONTROLE DE LA GAMETOGENESE DES HUITRES CREUSES ET PLATES. RELATIONS "REPRODUCTION" ET "GENETIQUE".

A. GERARD, Y. NACIRI-GRAVEN, P. BOUDRY, S. LAUNAY, S. HEURTEBISE, C. LEDU ET P. PHELIPOT.

*Laboratoire de Génétique, Aquaculture et Pathologie, Unité de Recherche en Génétique IFREMER, BP133 - 17390 La Tremblade. (F).*

**Résumé :** *A la fin des années 1980, après deux décennies d'acquis zootechniques sur les mollusques, l'IFREMER engage les premières recherches dans le domaine de la génétique. Très rapidement, ces nouvelles études font ressortir les limites des connaissances zootechniques, notamment en matière de contrôle de la reproduction des huîtres. Cet exposé tente de faire une synthèse dans ce domaine.*

*En particulier, il est souligné que la maîtrise zootechnique des années 80 se situait à l'échelle d'une population de reproducteurs et que la génétique réclame désormais une nouvelle zootechnie, permettant non plus de travailler sur des populations mais sur des individus préalablement identifiés. Cette maîtrise individuelle du contrôle de la reproduction chez les huîtres, pose des questions totalement nouvelles auxquelles ne répondent pas les protocoles existants en matière de contrôle du sexe, de maturation individuelle, de synchronisme des pontes, d'échanges chimiques entre géniteurs...*

Un inventaire des potentialités aquacoles de diverses espèces de mollusques bivalves a été réalisé dans les années 70 à 90. Ce travail a été conduit à partir d'un matériel sauvage sur lequel les connaissances de base étaient rudimentaires. A la fin des années 1980, fort de ces acquis zootechniques, l'IFREMER a engagé les premières recherches disciplinaires dans divers domaines, dont la génétique des mollusques.

Ce document, illustré par des exemples empruntés aux expérimentations génétiques, tente de faire ressortir les limites de nos connaissances en matière de contrôle de la reproduction des huîtres. Il décrit les stratégies mises en place par l'équipe de génétique pour compenser ces carences, et, énonce nos besoins en matière de recherche sur la physiologie de la reproduction.

### 1. LES ACQUIS ZOOTECHNIQUES

C'est à partir d'élevages, réalisés souvent de façon empirique, que durant les années 70 et 80, les bases zootechniques de la reproduction artificielle des bivalves marins ont été établies. Ces travaux ont permis de maîtriser, plus ou moins complètement, certaines phases du développement du mollusque (maturation en toute saison, induction de la ponte, élevages larvaire et post-larvaire, métamorphose et prégrossissement) et son alimentation à base d'algues phytoplanctoniques. Ces productions de masse, réalisées principalement sur la palourde du pacifique *Ruditapes philippinarum* et sur la coquille St-Jacques *Pecten maximus*, présentaient une variabilité importante en termes de croissance et de survie. Ces études ont néanmoins entraîné un essor d'écloseries et de nurseries privées sur la palourde.

A la fin des années 1980, suite à la maladie de l'anneau brun et aux problèmes économiques liés au développement de la palourde du Pacifique dans le milieu naturel, la filière éclosion s'est reconvertie dans la production d'huîtres. A la même période, les premiers travaux de

généétique ont fait ressortir les limites de nos connaissances en matière de contrôle de la reproduction des huîtres. Nous avons rencontré les mêmes difficultés zootechniques que les écloseurs privés dans la conduite de nos élevages (blocage de la croissance larvaire avant le stade umboné), auxquelles se sont ajoutés des problèmes plus spécifiques liés à la problématique génétique. Contrairement au mandat défini dans les cahiers d'objectifs du département Ressources Aquacoles, l'équipe de génétique s'est retrouvée dans l'obligation de mener une recherche zootechnique d'accompagnement aux programmes et de soutien à la profession.

Trois raisons principales peuvent expliquer cette situation :

- il n'y avait en réalité que peu d'acquis au niveau de l'Institut dans le domaine de l'élevage contrôlé des huîtres, les rares travaux en matière d'élevage contrôlé que l'on puisse citer, sont ceux de His et Robert (1987), Robert *et al.* (1989) sur *Crassostrea gigas*;
- nos acquis zootechniques en matière de maîtrise de la reproduction se situent à **l'échelle d'une population** de reproducteurs. Pour une éclosérie de production, la ponte en masse de géniteurs est suffisante pour assurer la production de naissain. Les besoins de la recherche sont tout autres, la génétique impose un travail sur des individus préalablement identifiés, ce qui suppose une maîtrise de la reproduction à **l'échelle de l'individu**;
- le choix dans les années 80, **d'un modèle biologique** (*Pecten maximus*) qui a absorbé l'essentiel des efforts de recherche en matière de physiologie de la reproduction et de la nutrition pendant une dizaine d'années. Pourtant la grande diversité des sexualités et des stratégies de reproduction rencontrée chez les mollusques bivalves, aurait dû fort logiquement aller à l'encontre d'un tel **choix exclusif**.

## 2. SEXUALITE ET DETERMINISME DU SEXE

### 2.1. Etat des connaissances

Les bivalves n'ont pas de chromosomes sexuels, ils possèdent potentiellement les deux sexes. Cette bipotentialité se traduit par l'existence d'un hermaphrodisme juvénile, certaines espèces s'orientent ensuite vers un gonochorisme (Mytilidés, Vénéridés, Cardidés, Solénidés), et d'autres, comme les huîtres, présentent diverses formes d'hermaphrodisme (Lubet, 1991).

L'huître creuse *Crassostrea gigas* (Ostréidé ovipare) présente un **hermaphrodisme asynchrone**, correspondant à des maturations déphasées des lignées mâle et femelle, et une **sexualité alternative** (gonochorisme apparent masquant un hermaphrodisme alternatif) entraînant un possible changement de sexe chaque année. L'huître plate *Ostrea edulis* (Ostréidé larvipare) présente également un **hermaphrodisme asynchrone** mais avec une **sexualité consécutive rythmique**, plusieurs inversions sexuelles pouvant se dérouler au cours d'une même saison de reproduction (Marteil, 1976). La tendance à la protandrie est de règle chez les deux espèces au début de leur activité sexuelle.

Les mécanismes physiologiques contrôlant le déterminisme des changements de sexe sont encore mal connus, comme le sont les facteurs externes pouvant les déclencher (température, nutrition). On ne connaît pas l'évolution du sexe des individus d'une même population élevée en milieu contrôlé et en milieu ouvert. Il n'existe actuellement pas de techniques de maturation permettant d'orienter les lignées germinales vers un sexe donné.

## 2.2. Stratégies mises en place

En l'absence de données précises sur le contrôle du sexe, diverses méthodologies ont été adoptées ou mises au point par l'équipe de génétique afin de pouvoir réaliser ses programmes.

### 2.2.1. Programmes nécessitant une maîtrise à l'échelle de la population

Comme nous le détaillerons plus loin, pour les *Crassostrea*, nous avons très vite abandonné les chocs thermiques pour induire les pontes, au profit d'une technique développée outre-Atlantique, le "stripping" (Allen *et al.*, 1989). Un des avantages de cette technique est de pouvoir sexer et trier les huîtres par observation des gamètes au microscope avant d'entamer les expérimentations. En cas de déficit en huîtres mâles, une recherche systématique est effectuée parmi les plus petits individus (protandrie). En cas de déficit en femelles (100% de mâles dans une population de *Crassostrea rivularis* par exemple cette année), il n'y a actuellement pas de solution.

Pour *Ostrea edulis*, il n'y a actuellement pas de réelle possibilité de sexage, les pontes sont généralement réalisées en masse dans le bac de maturation, sans contrôle effectif des individus qui participent à la ponte. L'emploi de la sérotonine comme inducteur de ponte, permet en partie de contourner cette difficulté, mais seuls les mâles répondent à cette stimulation.

### 2.2.2. Programmes nécessitant une maîtrise à l'échelle de l'individu

Le sexage peut être réalisé pendant la période de maturation par anesthésie au chlorure de magnésium et biopsie de la gonade chez *Crassostrea gigas*, mais il n'y a pas de solution en cas de déséquilibre de la sex-ratio puisqu'il n'existe pas de technique permettant d'orienter les lignées germinales vers un sexe donné.

Chez *Ostrea edulis*, dans le cadre du programme de sélection de souches résistantes ou tolérantes à la bonamiose, les croisements sont réalisés sur des huîtres préalablement identifiées. Pour contourner les difficultés liées à l'espèce (larvipare, sexage difficile car les lignées mâles et femelles coexistent généralement à l'intérieur de la gonade, induction individuelle de la ponte non maîtrisée), un dispositif de maturation dénommé HLM ("Habitation à Logettes de Maturation") a été mis au point.

Ce dispositif, qui comprend 100 aquariums de 20 litres et un nombre identique de tamis pour récupérer les larves, repose sur un principe simple : en associant deux huîtres dans un aquarium, on a théoriquement une chance sur deux d'avoir un couple mâle-femelle. Plus de cent croisements, issus de parents bien identifiés, ont ainsi été obtenus en 1995. Un résultat particulièrement intéressant a par ailleurs été noté. Si l'on excepte les croisements qui n'ont pas abouti pour cause de mortalité d'une des deux huîtres, 153 types de croisements biparentaux ont été tentés qui auraient dû théoriquement fournir entre 75 et 80 familles de plein-frères. Nous en avons obtenu 112, soit un succès proche de 75%, très éloigné des 50% théoriques. Ce résultat qui demande à être confirmé en 1996, soulève une question fondamentale pour le déterminisme du sexe : existe-t-il chez cette espèce des substances chimiques capables d'orienter le sexe du partenaire ?

### 3. CONDITIONNEMENT DES REPRODUCTEURS

Parmi les nombreux facteurs externes ou internes, reconnus comme pouvant influencer le déroulement de la gamétogenèse, il faut distinguer les facteurs **déclenchant** et les facteurs de **contrôle** de la gamétogenèse.

#### 3.1. Les facteurs déclenchant la gamétogenèse

L'huître plate *Ostrea edulis* présente une réelle phase de repos sexuel entre les mois de novembre et février. La reprise de l'activité génitale débute pour la majorité des auteurs (Lubet, 1991) aux environ de 10°C, Mann (1979) trouve par calcul une température de 6.75°C. A contrario, les maturations hivernales conduites depuis plusieurs années à La Tremblade, semblent montrer que le facteur déclenchant est indépendant du facteur température. La photopériode joue-t-elle un rôle chez *Ostrea edulis* comme chez *Pecten maximus* (Devauchelle et Mingant, 1991) ? Nous avons en effet remarqué que le naissain d'huître plate est très sensible aux variations lumineuses.

Chez *Crassostrea gigas*, il n'y a pas de véritable phase de repos sexuel, la gamétogenèse se déroule à un rythme très lent pendant la période hivernale (mitoses goniales), ce qui permet en éclosérie de la réactiver par conditionnement thermique (Lubet, 1991). Dans le bassin de Marennes-Oléron, Héral (1989) a montré une corrélation négative entre les températures automnales et la reprise de l'activité génitale, et, une quasi indépendance vis à vis des températures hivernales. Le début de la phase active de la gamétogenèse coïncide avec les plus basses températures hivernales.

#### 3.2. Les facteurs contrôlant la gamétogenèse

Parmi les facteurs qui contrôlent le déroulement de la gamétogenèse, on distingue habituellement, les **facteurs externes** (influence de l'environnement) et les **facteurs intrinsèques**, bien que ces facteurs soient étroitement liés.

##### 3.2.1. Les facteurs intrinsèques

Parmi les facteurs intrinsèques il faut citer d'une part, les facteurs neuroendocriniens dont les modalités d'action sont encore trop mal connues pour espérer une application à court terme au sein des écloséries, et, d'autre part l'état général de l'individu : l'âge, la taille, le niveau des réserves glucidiques. Ce dernier point est important car l'énergie accumulée pendant l'hiver chez les huîtres soutient l'effort de reproduction (Deslous-Paoli et Héral, 1988). **Il est essentiel de savoir dans quel état de réserve doivent se trouver les géniteurs pour mener à bien leur conditionnement en éclosérie.**

##### 3.2.2. Les facteurs externes

Les facteurs externes les plus couramment décrits dans la littérature sont la température, la nourriture, la salinité et la photopériode. Un facteur est souvent omis, la zootechnie. Ces facteurs doivent être hiérarchisés en fonction de leur degré d'incidence sur la gamétogenèse.

La **température** semble être le paramètre le plus important. Elle a fait l'objet de nombreuses études dans le milieu naturel et dans les écloséries. Dans le bassin de Marennes-Oléron, il a été montré qu'il existait chez *Crassostrea gigas*, une corrélation positive entre les températures printanières et la cinétique de la gamétogenèse (Héral, 1989). Le conditionnement des géniteurs est, selon les écloséries, effectué entre 20 et 25°C, l'optimum se situant à 22°C. Sa durée est d'autant plus courte que les géniteurs utilisés sont proches de la

maturité sexuelle. A une température de 22°C, il faut 30 à 45 jours en période hivernale pour obtenir des huîtres aptes à émettre leurs gamètes, il faut 15 à 20 jours aux mois d'avril-mai à la même température. A côté de ces considérations purement zootechniques, il ne faut pas oublier les relations entre température et problèmes pathologiques. Les données récentes concernant le facteur température dans l'expression de l'Herpès virus (Le Deuff *et al.*, sous presse), sont susceptibles d'entraîner des modifications dans les techniques de conditionnement.

Le conditionnement d'*Ostrea edulis* est généralement réalisé à une température de 20°C. En fonction de facteurs déclenchants restant à déterminer, la durée du conditionnement hivernal peut varier selon les années, de 20 à 70 jours. Cette durée est beaucoup plus réduite lors du deuxième cycle de maturation, en 1995 elle a été en moyenne de 22 jours dans les HLM, certaines huîtres étant capables d'émettre de nouveaux gamètes en moins de 10 jours.

La **nutrition** exerce un rôle considérable dans la reproduction des mollusques. Pour les huîtres, ce rôle est tout aussi important pendant la phase hivernale de stockage de réserves énergétiques qui sont mobilisées au printemps pour la fabrication des gamètes, que pendant tout le déroulement de la gamétogenèse (Deslous-Paoli *et al.*, 1981). La nutrition conditionne la fécondité et le recrutement. En écloserie, seul un régime à base d'algues phytoplanctoniques est actuellement fourni, pourtant dans le milieu naturel ces microalgues ne représentent qu'une part des éléments particuliers et nous savons par ailleurs que les éléments dissous et les bactéries sont également une source essentielle de nourriture (Héral, 1989). L'absence de contrôle des éléments dissous dans les essais de conditionnement en circuit fermé, peuvent expliquer les faibles fécondités obtenues.

A La Tremblade, le conditionnement est réalisé en circuit ouvert, l'eau de mer est renouvelée à raison de 4 à 5 litres/heure/géniteur et enrichie par une double injection de phytoplancton (du *Skeletonema costatum* produit en grande quantité à l'extérieur du bâtiment et un mélange de trois espèces d'algues produites à l'intérieur). Des comptages systématiques de ces apports quotidiens ont été réalisés en 1994; ils montrent que malgré cette double injection, l'apport nutritionnel provenant du milieu naturel ("Divers 300m<sup>3</sup>" dans la légende des figures 1 et 2) est loin d'être négligeable puisqu'il représente en moyenne 30 à 50% des algues proposées aux géniteurs auxquels il faut ajouter la part des matières organiques dissoutes.

L'action de la **salinité** sur la gamétogenèse est toujours discutée, il semble toutefois admis que, pour les bivalves vivant dans une large gamme de salinités, la reproduction se déroule normalement à l'intérieur des limites létales spécifiques (Lubet, 1991). Dans le milieu naturel, sur *Crassostrea gigas*, Héral (1989) a montré qu'une forte corrélation existait entre température et salinité pour prédire les bonnes reproductions. Chez *Ostrea edulis*, nous avons observé des problèmes de reprise de la gamétogenèse pour des salinités proche de 20‰. Comme pour beaucoup d'autres paramètres, il nous manque pour le conditionnement des huîtres en écloserie, les limites réelles de salinité à l'intérieur desquelles la gamétogenèse ne s'effectue pas.

La **photopériode** est un paramètre qui n'a pas fait l'objet d'étude chez les huîtres, de façon empirique, une photopériode croissante est réalisée dans la salle de maturation pendant le conditionnement hivernal des huîtres plates.

Les paramètres **zootechniques** sont rarement cités comme facteurs externes dans les études concernant le conditionnement des géniteurs, bien qu'ils aient une grande influence sur le déroulement de la gamétogenèse. A titre d'exemple, rappelons que le conditionnement de *Pecten maximus* est actuellement réalisé dans des bacs avec fond de sédiment faisant office de filtre biologique. Cette technique, mise au point par l'équipe de l'écloserie du Tinduff

Figure : 1

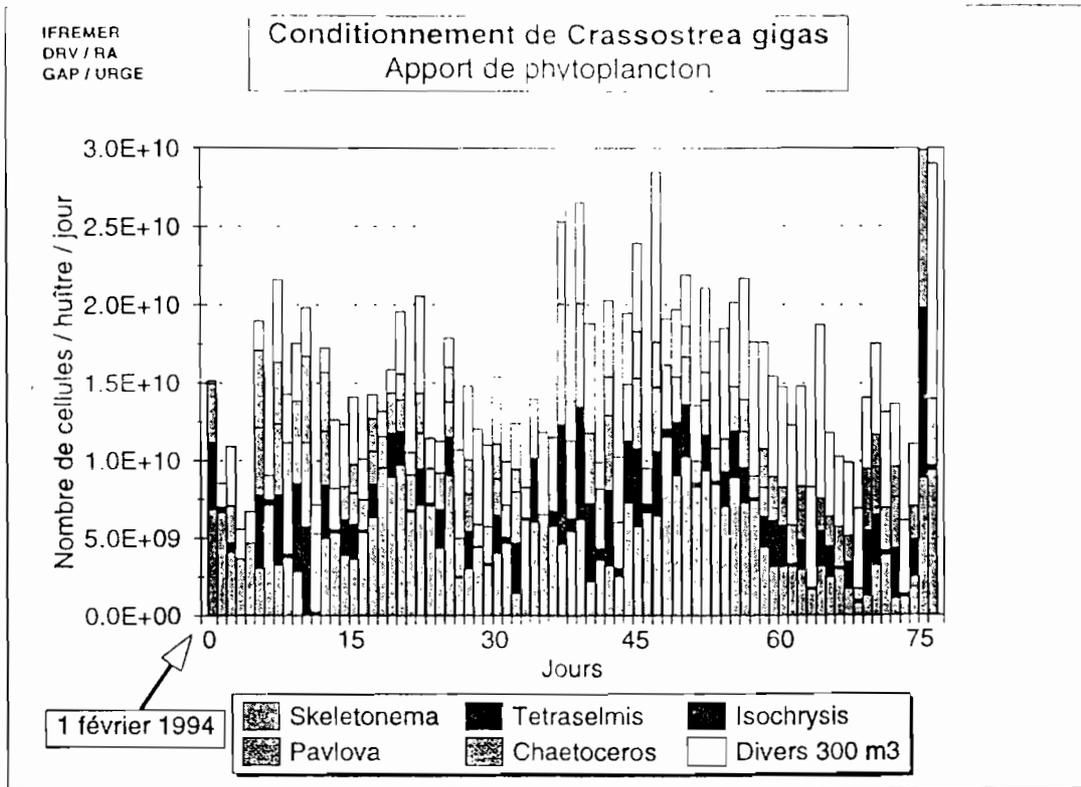
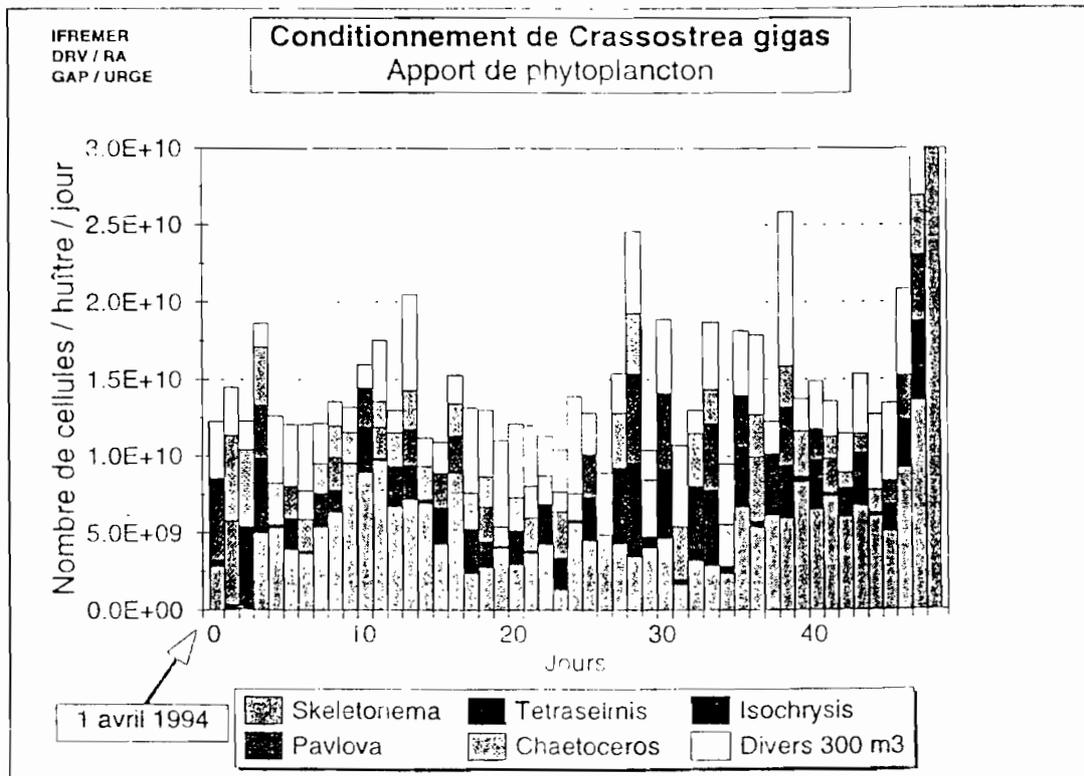


Figure : 2



(Bretagne) au début des années 80 (Gérard, non publié), a été déterminante pour le conditionnement de la coquille St Jacques en se montrant nettement plus performante que la technique utilisant des bacs à fond nu. Des paramètres tels que la taille du bac de conditionnement, le volume d'eau de mer disponible par géniteur, le débit d'eau de mer, le type de renouvellement (circuit ouvert ou fermé), le rythme des nettoyages... sont de nature à modifier le déroulement de la gamétogenèse.

## 4. INDUCTION DE LA PONTE

### 4.1. Huître creuse

Le procédé le plus classiquement utilisé en éclosérie industrielle est le choc thermique parfois associé à une addition de produits sexuels d'animaux sacrifiés. Ces techniques de stimulation donnent des résultats variables tant au niveau de la qualité des gamètes que du synchronisme de la ponte.

L'efficacité des traitements d'induction de la triploïdie chez *Crassostrea gigas* étant basée en partie sur le synchronisme embryonnaire, une autre méthode d'obtention des gamètes est employée à La Tremblade : le "stripping". Cette technique qui consiste à récupérer les gamètes par scarification de la gonade (Allen *et al.*, 1989), présente l'avantage de supprimer toute fécondation incontrôlée, d'obtenir des gamètes à un même stade de développement, de pouvoir contrôler leur qualité au microscope et de programmer à la minute près le début d'une expérience. L'inconvénient majeur d'une telle technique réside dans le sacrifice des géniteurs et dans le risque de ne pas recueillir des gamètes à l'optimum de leur pouvoir fécondant. Les huîtres creuses sont les rares bivalves dont les produits génitaux sont fonctionnels après un tel traitement. Les croissances et survies larvaires n'en sont pas affectées.

### 4.2. Huître plate

Le procédé habituellement utilisé dans les écloséries de production, consiste à placer des géniteurs dans un bac qui sert à la fois pour la maturation, la ponte et l'émission des larves. Ces dernières sont recueillies dans un tamis au fur et à mesure de leur émission, il n'y a aucun contrôle du moment de la ponte.

En 1991, pour mettre au point les techniques d'induction de la triploïdie chez *Ostrea edulis*, nos besoins étaient tout autres. Des pontes individuelles synchrones étaient nécessaires. Elles ont été obtenues en faisant murer des lots d'une cinquantaine d'huîtres, placées individuellement dans des récipients de 5 litres. Malgré le sacrifice régulier de quelques individus pour apprécier leur état de maturité, plusieurs échecs ont été enregistrés lors de l'induction de la ponte par choc thermique. Si des émissions de sperme étaient régulièrement obtenues, les émissions d'ovocytes étaient plus rares. *Le synchronisme requis dans ce type de programme se situe à l'échelle d'une population de géniteurs, la ponte doit être synchronisée, la fécondation entièrement contrôlée.*

Dans le cadre du programme de sélection de souches résistantes, le niveau de maîtrise est encore différent. *Le synchronisme requis se situe à l'échelle des deux parents identifiés, le moment de la ponte est indifférent, la fécondation n'a pas besoin d'être contrôlée si les deux partenaires sont isolés.* En attendant les résultats d'une recherche permettant d'accroître la maîtrise individuelle de la maturation, le dispositif HLM (§ 2.2.2) permettant de recueillir des

Figure : 3

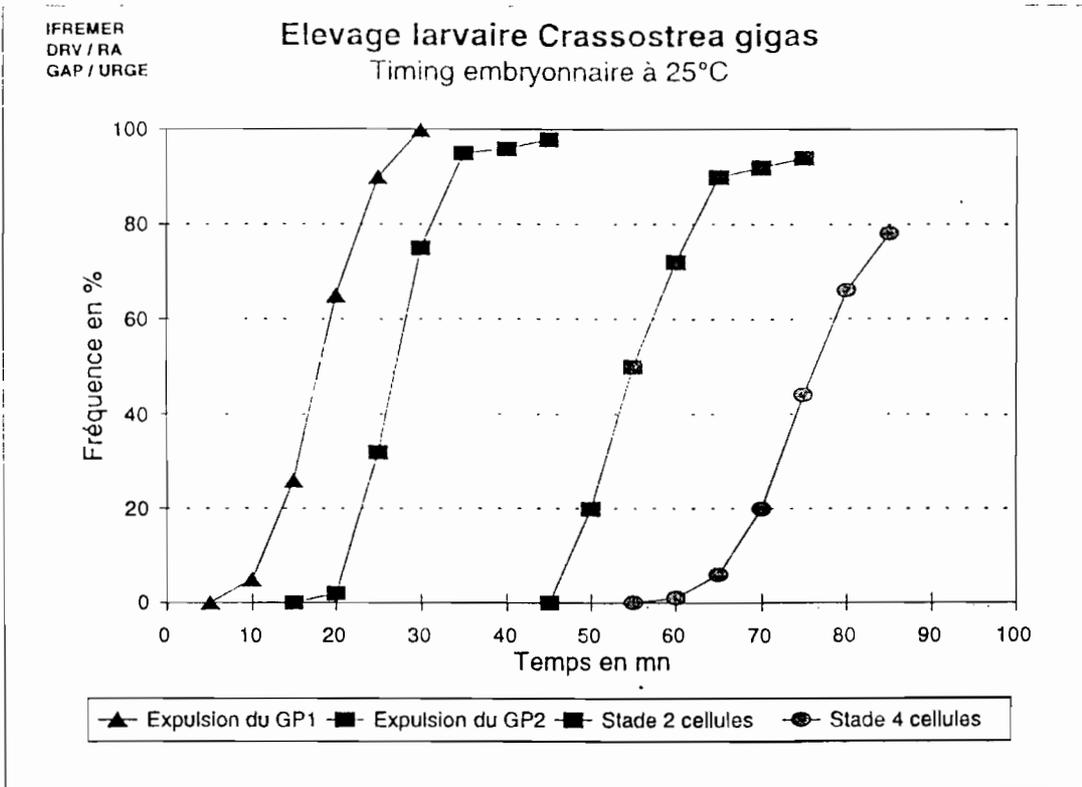
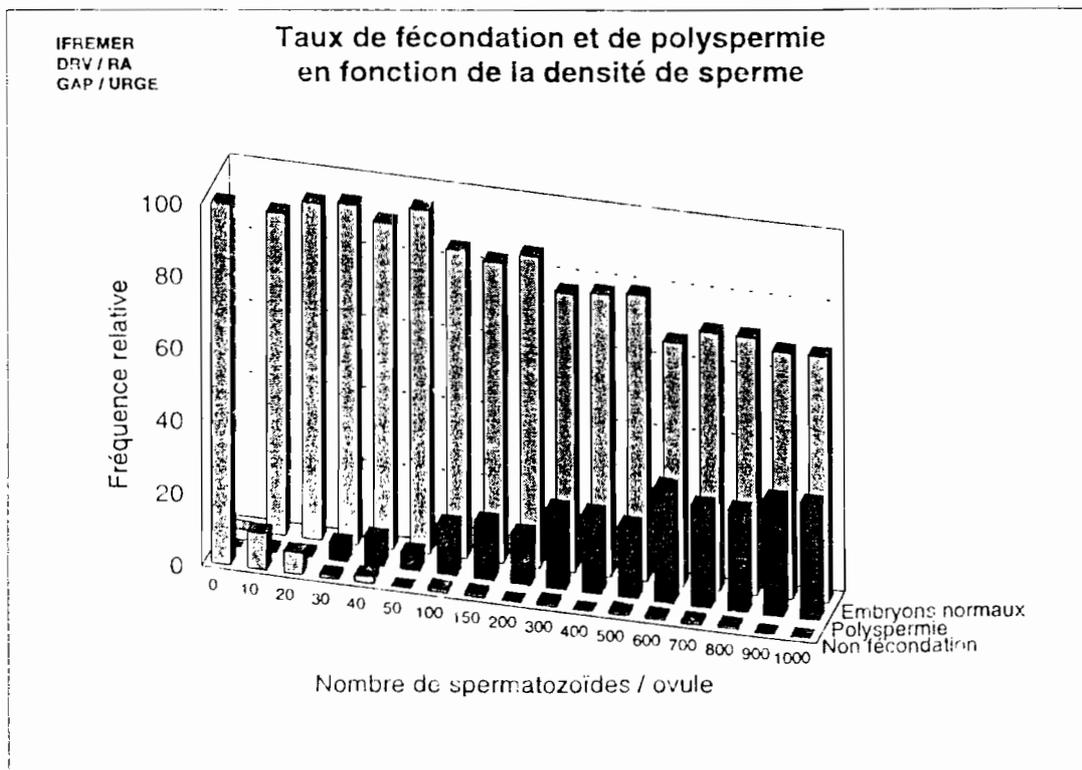


Figure : 4



larves issues de deux huîtres sélectionnées, répond à ces critères. Toutefois ce dispositif est "chronophage", tant au niveau de l'entretien de la structure qu'au niveau du temps nécessaire à l'obtention des croisements, il a fallu cinq mois pour obtenir 112 croisements biparentaux en 1995. En 1994, des tentatives de maturation individuelle dans le même dispositif s'étaient soldées par de nombreux échecs au moment de l'application des chocs thermiques. Des inductions de la ponte par un neurotransmetteur, la sérotonine, n'avaient abouti qu'à des émissions de sperme. Pendant la phase de maturation, plusieurs autofécondations avaient également été observées.

## 5. FECONDATION

La fécondation est externe chez les mollusques, elle se déroule dans le milieu extérieur pour les huîtres creuses et dans la cavité palléale pour l'huître plate. Le contrôle quantitatif et qualitatif de la fécondation s'effectue par l'analyse des taux de fécondation et par l'étude du développement embryonnaire précoce en microscopie à épifluorescence. Une technique de comptage des spermatozoïdes et des ovocytes par imagerie numérique a été mise au point.

### 5.1. Huître creuse

Afin d'améliorer le synchronisme embryonnaire dans les expériences d'induction de la triploïdie et de la tétraploïdie, l'étude du développement embryonnaire précoce en microscopie à épifluorescence a été d'une grande utilité. Grâce à cette technique, la chronologie entre la fécondation et le stade 4 cellules est très bien connue (figure 3) et un ratio optimal de spermatozoïdes par ovocyte (100 sp/ov) tenant compte d'un taux de polyspermie limité à 10% (figure 4) a été déterminé. Elle a aussi permis de standardiser le temps entre le prélèvement des ovocytes et la fécondation. Les ovocytes sont récupérés par stripping au stade prophase I de la méiose. En l'absence de toute fécondation, ils évoluent dans l'eau de mer jusqu'au stade métaphase I en passant par différents stades : rupture de la vésicule germinative, condensation des chromosomes et regroupement sur le plan équatorial. Chez *Crassostrea gigas* il faut environ 20 à 30 mn à 25°C pour atteindre ce stade, et toutes les expériences d'induction de la polyplôïdie débutent désormais à  $T_0-30\text{min}$ .

### 5.2. Huître plate

En raison de son mode de reproduction (larvipare), nos connaissances en matière de qualité des gamètes et de fécondation sont encore plus limitées que pour l'huître creuse. Toutefois, les expériences d'élevage *in vitro* réalisées dans le cadre de l'induction de la triploïdie ont permis d'acquérir des données sur le développement embryonnaire précoce qui est beaucoup plus lent que chez *Crassostrea gigas*. Une autre particularité réside dans l'émission des spermatozoïdes qui se fait sous forme de balles de sperme. Il est préférable de réaliser les fécondations avec du sperme de ce type plutôt qu'avec du sperme déjà individualisé.

## 6. QUALITE DES GAMETES ET QUALITE DES ELEVAGES LARVAIRES.

En l'absence de tests de qualité des gamètes, fiables et rapides, une forte variabilité dans les performances des élevages larvaires est souvent enregistrée. Cette variabilité est surtout sensible chez *Crassostrea gigas*.

Figure : 5

*Crassostrea gigas*  
Effet "mâle"

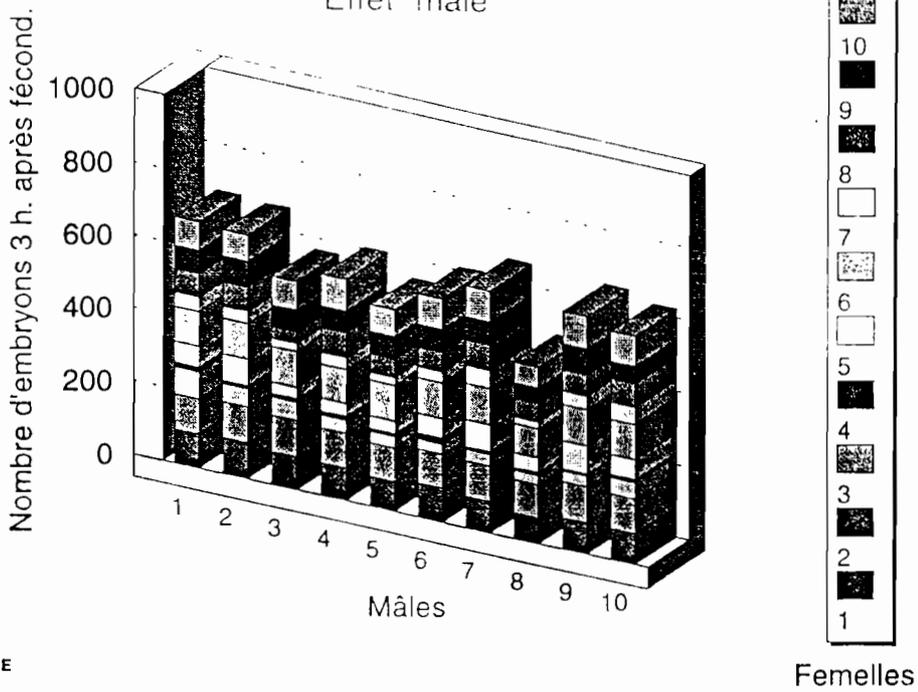
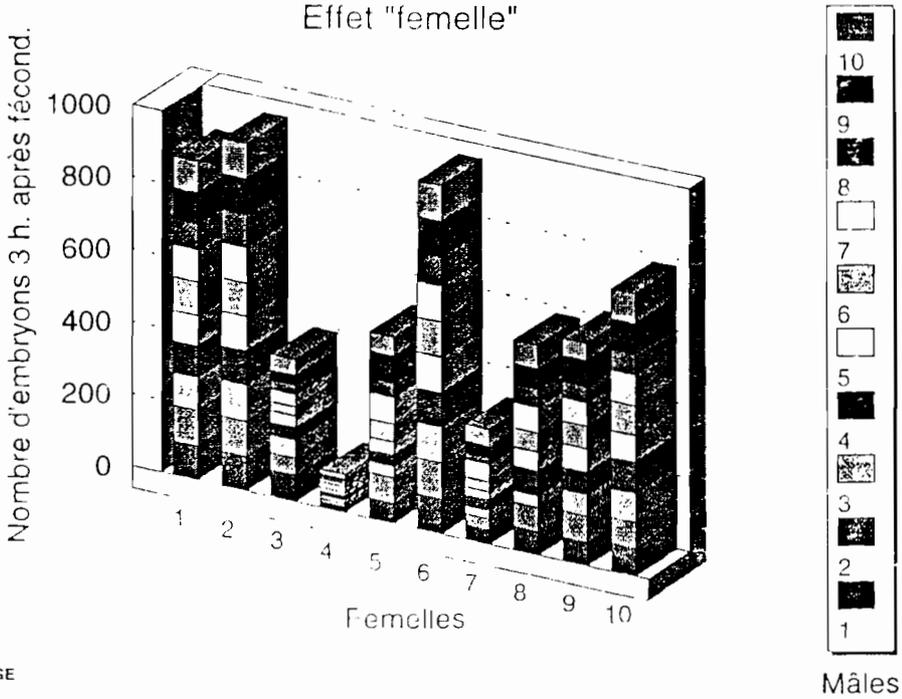


Figure : 6

*Crassostrea gigas*  
Effet "femelle"



### 6.1. Huître creuse

Hormis les observations microscopiques classiques (motilité du sperme, présence d'une vésicule germinative chez les ovules) nous n'avons que peu d'éléments pour juger de la qualité des gamètes. Une expérience réalisée en 1995 pour le futur programme européen GENEPHYS illustre fort bien la variabilité qui existe au sein d'une même population de géniteurs. A partir d'un plan factoriel de croisement, comprenant 10 mâles et 10 femelles, les 100 croisements obtenus ont été analysés en microscopie à épifluorescence 3 heures après fécondation. Sur chaque croisement, 100 produits ont été comptabilisés (ovules non fécondés, ovules fécondés mais bloqués à un stade précoce, embryons à développement normal). En cumulant le nombre d'embryons normaux obtenu par mâle ou par femelle avec les 10 autres congénères (soit un maximum de 1000 descendants), il est possible de faire ressortir la variabilité de qualité des gamètes (figure 5 et 6). Une analyse de variance montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les mâles, par contre elle est hautement significative entre les femelles. **Ces résultats indiquent qu'en matière de recherche sur la qualité des gamètes, priorité doit être donnée aux travaux sur les gamètes femelles.**

Les relations entre d'une part, la qualité des gamètes, les caractéristiques des embryons et des larves D, et d'autre part, la qualité des élevages larvaires, sont à établir. Selon les élevages, une proportion plus ou moins importante de larves ne passe pas le stade umboné (100µm), ce qui se traduit par des taux assez faibles de larves atteignant le stade pédivéligère (entre 20 et 50%). Ces blocages de croissance, liés à des carences en certains éléments essentiels, trouvent sûrement leur origine dans les conditions de maturation. Le passage du stade umboné (8 à 10 jours) semble être une étape décisive permettant de vérifier l'aptitude des gamètes et embryons à fournir des larves de qualité.

### 6.2. Huître plate

L'huître plate étant une espèce larvipare, les larves se développent pendant 8 jours environ dans la cavité palléale. Elles sont expulsées à une taille de 180µm en moyenne. Si l'on excepte les élevages *in vitro* conduits dans le cadre des recherches sur la polyploïdisation, les croissances larvaires sont en règle générale plus rapides et plus harmonieuses que celles de l'huître creuse, et, une forte proportion des larves atteint le stade pédivéligère (60 à 90%).

### 6.3. Conservation des gamètes ou des embryons

Les techniques de cryoconservation des gamètes ou des embryons dans le domaine aquacole sont très faiblement développées. Il est pourtant essentiel pour les recherches en génétique (autofécondation, hybridations, sélection sur descendance...) de pouvoir maîtriser ces techniques. Chez les huîtres, on peut citer les travaux de Lannan (1971) sur la conservation du sperme de *Crassostrea gigas*, travaux repris par Bougrier et Rabenomanana (1986), et, les recherches récentes de Chao *et al.* (1994) sur la cryoconservation des embryons.

## CONCLUSION

De réels progrès ont été réalisés ces dernières années dans la connaissance des mécanismes de contrôle de la gamétogenèse, de la ponte et de la fécondation, mais sur une seule espèce *Pecten maximus*, et à l'échelle d'une population de géniteurs. Ce document, qui fait le parallèle entre les programmes "reproduction" et "génétique", souligne les lacunes restant à combler

chez les huîtres, notamment dans le domaine de la maîtrise de la gamétogenèse à **une échelle individuelle**.

Il est bien entendu que les généticiens ne sont et ne doivent pas être les seuls bénéficiaires des recherches dans le domaine de la maîtrise de la fertilité. Toutefois nos demandes rejoignent en grande partie les préoccupations actuelles des éclosiers de production, même si le niveau d'étude ne réclame pas la même finesse : maîtrise au niveau de l'individu pour la recherche et au niveau de la population pour la production.

Les sujets d'étude évoqués dans cette courte synthèse sont nombreux, ils peuvent être regroupés en plusieurs rubriques d'inégale importance selon l'espèce :

- choix des géniteurs (concerne surtout l'huître creuse) :
  - origine géographique,
  - relations âge et taille du reproducteur, et, quantité et qualité des gamètes,
  - importance des réserves glucidiques,
  - en fonction de critères pathologiques (herpès virus) ;
- déterminisme du sexe (toutes les huîtres mais priorité à la plate) :
  - mécanismes physiologiques contrôlant les changements de sexe,
  - influence de l'âge et de la taille sur le déterminisme du sexe,
  - recherche de substances susceptibles d'orienter le sexe des huîtres environnantes,
  - orientation artificielle des lignées germinales,
  - méthodes de sexage ;
- maturation (toutes les huîtres mais priorité à la creuse) :
  - nature et rôle des facteurs déclenchant la gamétogenèse (huître plate),
  - étude des facteurs exogènes et endogènes contrôlant la gamétogenèse, et étude de leurs effets synergiques,
  - qualité et quantité de l'alimentation des reproducteurs, rôle des éléments dissous, diversification des espèces et des souches d'algues phytoplanctoniques,
  - désaisonnalisation des gamétogenèses ;
- induction de la ponte (toutes les huîtres mais priorité à la plate) :
  - synchronisation des pontes,
  - induction individuelle ;
- qualité des gamètes (toutes les huîtres mais priorité à la creuse) :
  - définir des critères de qualité des gamètes, avec une priorité aux gamètes femelles,
  - établir les relations entre qualité des gamètes, qualité des embryons et qualité des élevages larvaires,
  - cryoconservation des gamètes ou des embryons ;
- fécondation (concerne surtout l'huître creuse) :
  - optimisation des procédures de fécondation,
  - ratio sperme/ovocyte (bien connu mais à affiner en fonction de la qualité des gamètes),
  - synchronisation du développement embryonnaire précoce (sujet déjà bien maîtrisé dans le cadre des programmes cytogénétiques).

La multiplicité des études à aborder sous-entend la mise en place de moyens humains et financiers. Ceux-ci étant de plus en plus limités, il convient de bien définir les axes prioritaires, de rechercher les collaborations en interne (actions conjointes sur certains sujets des groupes reproduction, nutrition, zootechnie, génétique) et de bien cibler les coopérations externes.

## Références

- Allen S.K., S.L. Downing and K.K. Chew, 1989.** Hatchery manual for producing triploid oysters. Distributed by University of Washington Press, Seattle, Washington. 27 p.
- Bougrier S. and L.D. Rabenomanana, 1986.** Cryopreservation of spermatozoa of the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, **58** : 277-280.
- Chao N. H., C.P. Chiang, H.W. Hsu, C.T. Tsai and T.T. Lin, 1994 .** Toxicity tolerance of oyster embryos to selected cryoprotectants. *Aquat. Living Resour*, **7** : 99-104
- Deslous-Paoli J.M., M. Héral, J.P. Berthome, D. Razet et J. Garnier, 1982.** Reproduction naturelle de *Crassostrea gigas* Thurnberg dans le bassin de Marennes-Oléron en 1979 et 1981: aspects biochimiques et énergétiques. *Rev.Trav. Inst. Pêches marit.*, **45** : 319-327.
- Deslous-Paoli J.M. and M. Héral, 1988.** Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oléron. *Aquat. Liv. Resour.*, **1** : 239-249.
- Devauchelle N. and C. Mingant, 1991.** Review of reproductive physiology of scallop, *Pecten maximus*, applicable to intensive aquaculture. *Aquat. Living Resour.*, **4** : 41-51.
- Héral M., 1989.** L'ostréiculture traditionnelle. In : Aquaculture - G. Barnabé coordonateur, Lavoisier (Tec. Doc.) Ed., Paris : 348-397.
- Héral M. et J.M. Deslous-Paoli, 1983.** Valeur énergétique de la chair de l'huître *Crassostrea gigas* estimée par mesures microcalorimétriques et par dosages biochimiques. *Oceanol. Acta*, 1983, **6**(2) : 193-199.
- His E. et R. Robert, 1987.** Impact des facteurs anthropiques sur le recrutement de l'huître : l'exemple du bassin d'Arcachon. *Océanis*, **13**(3) : 317-335
- Lannan J.E., 1971.** Experimental self-fertilisation of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* , utilising cryopreserved sperm. *Genetics*, **68** : 599-601.
- Le Deuff R.M., T. Renault, A. Gérard and Y. Naciri, (sous presse).** Thermal effects on Herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Diseases of Aquatic Organisms*.
- Lubet P., 1991.** Reproduction des mollusques. In : Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture - G. Barnabé Coordonateur, Lavoisier (Tec. Doc.) Ed., Paris : 166-210.
- 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.
- Marteil L., 1976.** La conchyliculture Française. (2ème partie). Biologie de l'huître et de la moule. *Rev. Trav. Inst. Pêches Mar.*, **40** (2) : 149-346.
- Robert R., T. Noël and R. Galois, 1989.** The food value of five unicellular diatoms to the larvae of *Crassostrea gigas* Thunberg. *EAS, Spec. Publ.* **10** : 215-216.