

Hybridation naturelle entre les deux sous-espèces d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* au sud de l'Europe

A. Huvet, C. Fabioux, S. Lapègue & P. Boudry
Laboratoire Génétique et Pathologie, La Tremblade - France

Crassostrea angulata et *Crassostrea gigas*, deux huîtres creuses d'origine asiatique (O'Foighil *et al.*, 1998), ont été successivement introduites en Europe respectivement au cours du XVI^{ème} et du XX^{ème} siècle (Grizel et Héral, 1991). Les populations actuelles de *C. angulata* apparaissent restreintes au sud de l'Espagne et du Portugal, alors que la distribution européenne des populations de *C. gigas* s'accroît en raison du développement de l'aquaculture. La distinction entre ces deux sous-espèces est basée sur un marqueur RFLP du génome mitochondrial (COI) qui montre une forte différenciation génétique entre les populations des deux sous-espèces (Boudry *et al.*, 1998). A l'inverse, des marqueurs nucléaires (microsatellites) ont montré une plus faible différenciation génétique entre ces mêmes populations (Huvet *et al.*, sous presse). L'absence de barrière reproductive entre *C. angulata* et *C. gigas* a été démontrée expérimentalement (Gaffney et Allen, 1993 ; Huvet, 2000), et permet de supposer des phénomènes d'hybridation dans la nature entre ces deux huîtres creuses. Pour l'étudier, 9 populations ont été échantillonnées le long de la côte atlantique européenne (France, Espagne, Portugal).

Le marqueur mitochondrial a montré la présence de moins de 1% d'individus *C. angulata* dans les populations françaises et du Nord de l'Espagne alors que les populations du Portugal et du sud de l'Espagne sont exclusivement constituées d'haplotypes *C. angulata*. Une seule population, localisée au sud du Portugal, montre clairement un mélange des deux sous-espèces.

Un polymorphisme significatif de taille d'allèles a été observé entre taxons au locus microsatellite CG44 (Huvet, 2000). Le séquençage d'allèles a révélé la présence d'une insertion, permettant le développement d'un marqueur nucléaire PCR-RFLP (CG44R). L'analyse des populations échantillonnées par ce marqueur révèle son caractère diagnostique (à l'échelle des populations) et suggère que la spécificité du marqueur CG44R serait antérieure à l'introduction des deux taxons en Europe. Les fréquences alléliques à ce marqueur suivent un patron très similaire à celui observé au marqueur COI, confirmant le mélange de *C. angulata* et *C. gigas* dans une population au sud du Portugal. L'absence de déséquilibre de liaison dans cette population supporte l'hypothèse de phénomènes d'hybridation naturelle entre les deux sous-espèces. Cette constatation n'est valable que dans la zone géographique du sud du Portugal où l'activité ostréicole a mis les deux sous-espèces en présence. En effet, aucun flux génique n'a été détecté entre populations naturelles de *C. angulata* et *C. gigas* le long du littoral atlantique. En conséquence, le développement actuel de l'aquaculture de *C. gigas* au sud de l'Europe soulève le problème de la conservation des populations européennes de *C. angulata*.

Références :

- Boudry P, Heurtebise H, Collet B, Cornette F et Gérard A (1998). Differentiation between populations of the Portuguese oyster, *Crassostrea angulata* (Lamarck) and the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg) revealed by mtDNA RFLP analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 226: 279-291.
- Gaffney PM et Allen KS (1993). Hybridization among *Crassostrea* species - a review. *Aquaculture*, 116: 1-13.
- Grizel, H. et Héral, M. (1991). Introduction into France of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*). *J.Cons. int. Explor. Mer* 47: 399-403.
- Huvet A (2000) Ressources génétiques et phylogéographie des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* : variabilité, différenciation et adaptation des populations naturelles et introduites. Thèse de doctorat, Université François Rabelais de Tours, 202 pp.
- Huvet A, Lapègue S, Magoulas A et Boudry P. Mitochondrial and nuclear DNA phylogeography of *Crassostrea angulata*, the Portuguese oyster endangered in Europe *Cons. Genet.*, sous presse.
- O'Foighil D, Gaffney PM, Wilbur AE et Hilbish TJ (1998) Mitochondrial cytochrome oxidase I gene sequences support an Asian origin for the Portuguese oyster *Crassostrea angulata*. *Mar Biol*, 131(3), 497-503.

Ressources génétiques des huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* : variabilité, différenciation et adaptation des populations naturelles et introduites

Laboratoire de Génétique et Pathologie, La Tremblade
 Laboratoire Conchylicole des Pays de la Loire, Bouin
 Laboratoire Conchylicole de Poitou Charente, La Tremblade
 Laboratoire Génome, Populations, Interactions, Sète

Ifremer

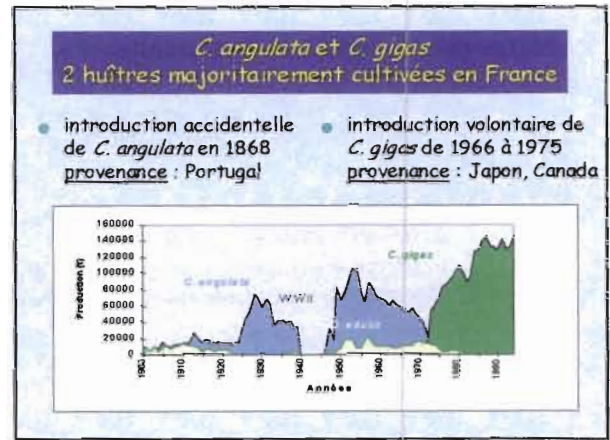
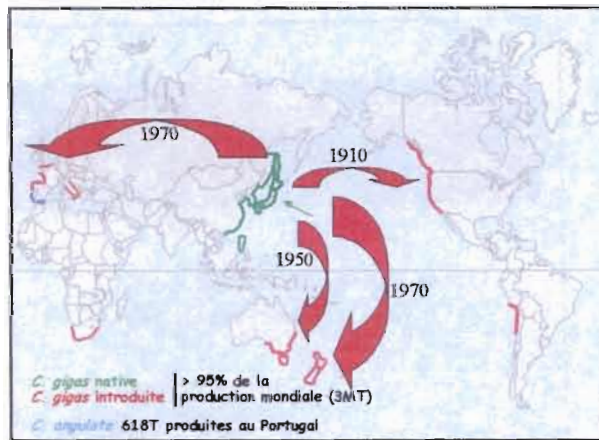
C. angulata* et *C. gigas
 2 taxons proches d'huîtres creuses

l'huître creuse japonaise
Crassostrea gigas

l'huître creuse portugaise
Crassostrea angulata



↳ distinction initiale en 2 espèces suivant leur origine géographique (i.e. Japon versus Portugal)

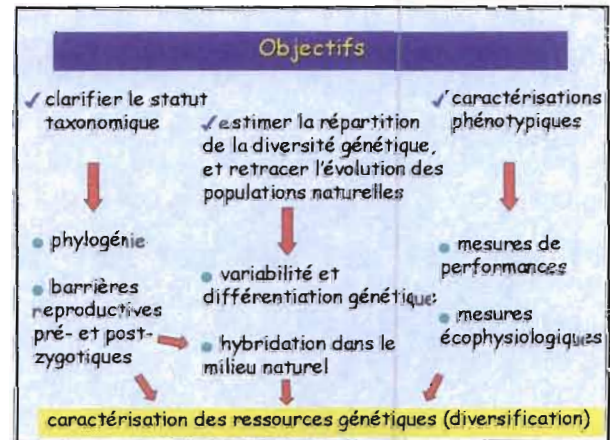


***C. angulata* et *C. gigas* : une seule espèce ?**

- inter-fertilité expérimentale
- morphologiquement indiscernables
- 😊 forte similitude des caryotypes
- allozymes : aucune différenciation génétique significative
- microsatellites : faible différenciation génétique

Mais...

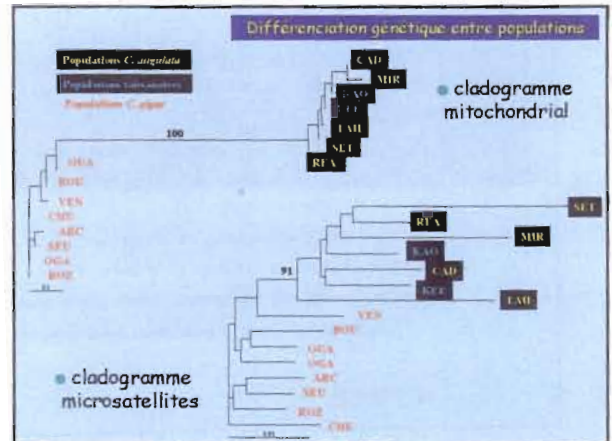
- croissance supérieure de *C. gigas*
- 😞 activité valvaire supérieure de *C. gigas*
- très grande sensibilité à l'Iridovirus de *C. angulata* (maladie des branchies)



Hybridation expérimentale, notion d'espèce

- ✓ au niveau moléculaire : séquençage d'un fragment d'ADN nucléaire : ITS 1 (espace transcrit interne de l'unité ribosomique)
- ↳ forte identité génétique entre taxons, comparable à la divergence intra-taxonomique (de 2 à 3 %)
- ✓ au niveau reproductif : examen des barrières reproductives possibles pré- et post-zygotiques
- ↳ inter-fertilité totale en conditions expérimentales
- ↳ fertilité des hybrides

même espèce



Origine asiatique de *C. angulata*

- ✓ analyses des génomes mitochondrial et nucléaires (microsatellites) révèlent l'origine asiatique de *C. angulata*

hypothèse : *C. angulata* aurait été transportée au 16^e ou 17^e siècle au cours des échanges commerciaux entre le Portugal et l'Asie, et donc décrite par Lamarck après son implantation en Europe

ressources génétiques différenciées

Hybridation naturelle entre les taxons d'huîtres creuses *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* au sud de l'Europe

Arnaud Huvet, Caroline Fabioux, Sylvie Lapègue et Pierre Boudry

Ifremer
Laboratoire de Génétique et Pathologie - La Tremblade

Deux zones hybrides potentielles

- ↳ Taiwan - Japon ??
- ↳ France - Portugal ?? → échantillonnage de 10 pop.

Marqueur mitochondrial COI

Hybridation ou mélange ?

Hybridation naturelle : la zone européenne

- *C. gigas* au Nord, *C. angulata* au Sud
- absence d'huître creuse : barrière(s) au flux ?
 - ▲ conditions non propices à la fixation larvaire, ou phénomènes hydrodynamiques
 - ▲ préférendums écologiques (exemple chez *Mytilus*)
- ↳ pas de zone hybride naturelle en Europe
- une seule population en mélange au sud du Portugal liée à activité ostréicole en expansion
- ↳ étude des phénomènes d'hybridation naturelle

Recherche d'un marqueur nucléaire spécifique

- ↳ allozymes
- ↳ séquençage du fragment ITS
- ↳ DALPs
- ↳ polymorphisme de longueur d'introns (amylase, oIKK)
- ↳ différence de taille d'allèles microsatellites :

Recherche d'un marqueur nucléaire spécifique

- ✓ séquençage de 2 allèles
- allèle 266pb d'un individu *C. angulata*
- allèle 188pb d'un individu *C. gigas*
- 11 substitutions, 2 insertions (21 et 43 pb)
- 7 éléments répétés (CA) ≠ 39 attendus

Fréquences des 2 insertions

- insertion 43 pb quasi-fixée (99% des individus analysés)
- insertion 21 pb : un site de coupure par l'enzyme BsrGI
- ↳ mise au point d'un marqueur moléculaire PCR-RFLP : CG44R

Seudre = 90 % (*C. gigas*)

Rio Mira = 10 % (*C. angulata*)

Hybridation naturelle : la zone européenne

- ✓ analyses de 5 populations européennes et 2 asiatiques par le marqueur nucléaire CG44R
- marqueur nucléaire CG44R
- marqueur mitochondrial

↳ marqueur diagnostique à l'échelle populationnelle

Tavira : mélange ou hybridation ?


- mélanges des fréquences COI et CG44R
- pas de déficit significatif en hétérozygotes
- hétérozygotie observée 2 fois supérieure à Tavira
- pas de déséquilibre nucléo-cytoplasmique significatif (P = 0.2)

↳ hybridation naturelle entre *C. gigas* et *C. angulata* au sud du Portugal

Conclusion

- ✓ pas de flux naturel en Europe entre les 2 taxons
- ✓ *C. angulata* et *C. gigas* s'hybrident dans la nature où l'activité ostréicole les a mis en contact (action anthropique)
- ✓ analyse de la répartition de la diversité génétique dans les populations asiatiques

↳ **histoire évolutive**



qu'en est-il au niveau phénotypique ?