

Passage de l'endotrophie à l'exotrophie chez les larves de *Mytilus edulis*

Bivalves
Endotrophie
Exotrophie
Larves
Mytilus edulis
Bivalves
Lecithotrophy
Planktotrophy
Larvae
Mytilus edulis

Albert LUCAS, Lila CHEBAB-CHALABI, Dalila ALDANA ARANDA

Laboratoire de Zoologie, Faculté des Sciences,
29287 Brest cedex, France.

Reçu le 9/7/85, révisé le 1/10/85, accepté le 3/10/85.

RÉSUMÉ

Chez les larves de *Mytilus edulis*, le passage de l'endotrophie (ou lécithotrophie) à l'exotrophie (ou planktotrophie) a été étudié grâce à des observations histologiques portant sur l'évolution des inclusions lipidiques dans les organes larvaires et à des mesures biochimiques : variations de la biomasse (matière organique); taux de lipides totaux par rapport à la matière organique par microanalyse gravimétrique; proportion de larves riches en lipides par coloration *in toto* au noir Soudan. La convergence des résultats de toutes ces techniques a permis de montrer qu'il existe, entre l'endotrophie et l'exotrophie strictes, une phase qu'on peut appeler mixotrophe, où la jeune larve se nourrit conjointement de son vitellus et des particules planctoniques ingérées. Chez *Mytilus edulis*, élevé à 17-20°C, la chronologie du phénomène a pu être précisée : endotrophie pendant deux jours, mixotrophie du 2^e au 8^e jour environ, exotrophie ensuite et un modèle graphique a été proposé montrant, pour les dix premiers jours, les proportions des diverses sources de nourriture : vitellus, plancton et substances organiques dissoutes. Les mesures de la coquille et les observations sur les larves soumises au jeûne n'ont fourni aucun renseignement utilisable dans cette étude.

Oceanol. Acta, 1986, 9, 1, 97-103.

ABSTRACT

Transition from endotrophy to exotrophy in the larvae of *Mytilus edulis* L.

The transition from endotrophy (or lecithotrophy) to exotrophy (or planktotrophy) in the larvae of *Mytilus edulis* was studied using biochemical and histological techniques: variations in organic matter content, lipid levels relative to the total organic matter, and the proportion of larvae rich in lipids determined by *in toto* staining Sudan black. Convergent results from each technique confirm the existence of an intermediate trophic phase which may be called "mixotrophy", in which young larvae utilize vitelline reserves and planktonic particles simultaneously. The sequence of phases has been determined for *Mytilus edulis* reared at 17-20°C: endotrophy for the first two days, followed by mixotrophy from the second to approximately the eighth day, at which point the animal becomes exotrophic under conditions of appropriate food supply. A graphic model is presented, showing the percent contribution of each food source during the first ten days of life.

Conventional measurements of larval shell length and observations of unfed larvae were found to be of no use in studying larval trophic phases.

Oceanol. Acta, 1986, 9, 1, 97-103.

INTRODUCTION

Bien que les élevages de bivalves soient fréquemment réalisés depuis les travaux de Loosanoff et Davis (1963) et de Walne (1966), les connaissances sur la structure et la physiologie des larves restent encore assez sommaires, même pour les groupes systématiques les plus communément étudiés : Ostreidae, Mytilidae, Veneri-

dae et Pectinidae (Lucas, 1984). En particulier, les modes de nutrition des premiers stades de développement n'ont jamais été étudiés en détail et les découpages chronologiques en fonction de la physiologie, ont été établis sur des constats sommaires. Ainsi, Sprung (1984) oppose simplement une première phase « lécithotrophe », à une phase « de croissance » (qui débute quand la larve commence à se nourrir et

augmente de poids), sans envisager un régime de transition.

La présente étude a été entreprise pour tenter d'explicitier les modalités de cette transition. Les termes d'« endotrophie » (l'organisme se nourrit sur ses propres réserves) et d'« exotrophie » (l'organisme se nourrit à partir du milieu extérieur) ont été adoptés en référence à Bougis (1967) qui les a appliqués aux larves d'oursins dont la biologie est voisine de celle des bivalves.

Pour résoudre le problème posé, diverses mesures et observations (croissance en longueur et poids, proportion de lipides, réserves tissulaires) ont été réalisées sur des élevages de *Mytilus edulis*, les uns nourris, les autres soumis au jeûne.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Techniques d'élevage

Les exemplaires adultes de *Mytilus edulis* ont été récoltés en rade de Brest où leur cycle sexuel comporte de nombreuses périodes de maturité au cours de l'année. Après un stockage de quelques jours en aquarium à 15°C, les lots d'animaux matures ont été utilisés directement, les lots immatures ont été conditionnés (eau de mer à 20°C et abondante nourriture phytoplanctonique).

L'opération de stimulation des géniteurs a comporté un nettoyage des exemplaires (donc leur émergence pendant quelques minutes) et des variations progressives et successives de la température de l'eau de mer comprises entre 18 et 25°C, le temps de passage de l'une ou l'autre étant d'une demi-heure environ. Les animaux qui émettaient leurs produits génitaux étaient immédiatement isolés dans des cristallisoirs où ils poursuivaient leur émission. L'eau de mer utilisée pour cette opération et les suivantes a toujours été préalablement filtrée à 0,2 µm.

Les pontes des différentes femelles, constituées de quelques millions d'ovocytes, ont été traitées séparément. Après lavage rapide à l'eau de mer sur un filtre de 40 µm, les ovocytes ont été transférés dans une éprouvette où, après homogénéisation du contenu, des prélèvements ont été faits pour procéder aux comptages. Les ovocytes ont ensuite été transférés dans des récipients de quelques litres, de façon à avoir une densité maximale de 30 000 ovocytes/l. La fécondation a été réalisée en ajoutant à chaque ponte des spermatozoïdes provenant d'un seul mâle, sans comptage précis (proportions variables de l'ordre de 100 à 1 000 spermatozoïdes par ovocyte). Les œufs fécondés ont été laissés au repos pendant deux jours dans la salle d'élevage où la température a été, soit de 17°C (en février), soit de 20°C (en mai), la salinité étant toujours de 34.

Le deuxième jour après la fécondation et tous les deux jours par la suite, l'eau des récipients contenant les larves a été renouvelée. Dans ce but, les larves étaient retenues sur des filtres (de 40 µm, 80 µm, 120 µm, etc.), choisis en fonction de leur taille, puis remises en eau

fraîche. A chaque fois, des comptages et des mensurations ont été effectués, ce qui a permis de maintenir la densité larvaire aux environs de 10 000 larves/l.

Chaque jour, les larves ont reçu des cultures d'algues monocellulaires, à raison de $2 \cdot 10^7$ cellules/l, soit 2 000 cellules par larve. L'ingestion des algues par les larves a été vérifiée par l'observation de ces dernières au microscope à épifluorescence suivant la technique de Lucas et Rangel (1981). Les cultures d'algues ont été réalisées selon la méthode de culture discontinue ou « batch culture system » (Ukeles, 1973) et ont été utilisées, comme nourriture, pendant la fin de la phase exponentielle et le début de la phase stationnaire d'après la terminologie de Myers (1962). Les espèces cultivées ont été deux haptophycées : *Pavlova (Monochrysis) lutheri* (Parke) Green et *Isochrysis galbana* Parke et une chorophycée, *Dunaliella primolecta* Butcher.

Étude de la croissance

La longueur (L) de la coquille, correspondant à la distance antéropostérieure, a été utilisée puisque c'est le critère universel de croissance chez les larves de bivalves. Cette longueur a été mesurée sur 50 individus par prélèvement, à l'aide d'un analyseur d'images avec une précision de 1 µm.

Les mesures pondérales ont été effectuées soit sur un nombre connu de larves ou d'œufs et dans ce cas, les poids unitaires par larve ou œuf ont pu être calculés, soit sur une quantité de larves dont le nombre n'était pas connu et dans ce cas, seules les proportions de matière organique (MO), de matière inorganique (MI) ou de lipides ont été établies.

Dans le premier cas, les œufs ou les larves (de 7 500 à 10 000) étaient recueillis sur un filtre Watmann de fibre de verre de poids connu (25 mg environ et 2,5 cm de diamètre). Après avoir reçu les œufs ou les larves, chaque filtre a été rincé avec une solution de formiate d'ammonium pour enlever les sels provenant de l'eau de mer, passé à l'étuve à 100°C pendant 24 heures et pesé. On en a déduit le poids de matière sèche des larves ou des œufs. Le poids de MI a été obtenu après passage des filtres au four à 500°C pendant quatre heures sur un cycle de 12 heures (augmentation progressive de la température pour éviter les projections de matière). Le poids de MO a été déduit des deux précédents. Les pesées ont été faites sur balance Mettler H 34, avec tarage automatique et précision de 10 µg.

Étude des lipides

Étude quantitative (proportion de lipides totaux)

Environ 10 000 larves ont été prélevées pour chaque dosage, ce qui, après lyophilisation, a permis d'obtenir de 1 à 2 mg de matière sèche en fonction de l'âge des larves. L'extraction des lipides a été réalisée à partir de 400 µl de broyat de larves, avec un mélange de dichlorométhane et d'éthanol selon la méthode gravimétrique de Folch *et al.* (1957) modifiée par Beninger et Lucas (1984).

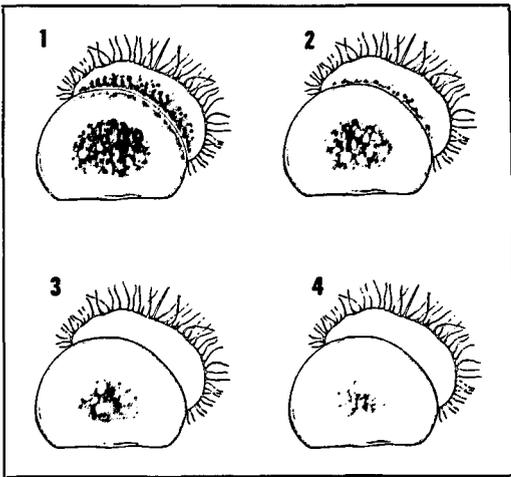


Figure 1

Échelle graphique en 4 catégories des larves colorées *in toto* par le noir Soudan.

Graphic scale involving 4 classes of larvae coloured *in toto* by Sudan black.

Étude qualitative (coloration des lipides sur larve *in toto*)

Les larves (50 par échantillon) ont été colorées individuellement au noir Soudan B selon la méthode de Gallager et Mann (1981). Les larves, progressivement anesthésiées au chlorure de magnésium, ont été fixées au formol neutre. La coloration a duré une heure, puis les larves ont été rincées pendant quatre heures à l'éthylène glycol pour éliminer l'excès de colorant. Les larves, récupérées sur filtre, ont été transférées sur lame (montage à la glycérine) pour observation au microscope optique. Elles ont alors été classées en fonction de l'intensité de coloration en quatre catégories (fig. 1).

Étude histologique

Les larves, préalablement placées au congélateur à -20°C pendant 10 minutes, pour favoriser l'ouverture des valves, ont été fixées au cacodylate de sodium-glutaraldéhyde d'une part et tétraoxyde d'osmium

d'autre part. La décalcification des larves a été réalisée pendant 12 heures à froid avec de l'acide ascorbique à 1%, dilué dans du chlorure de sodium 0,5 N. Après rinçage au cacodylate, elles ont été déshydratées à l'alcool puis dans la résine de Spurr.

Les coupes semi-fines ($2\ \mu\text{m}$) ont été colorées soit au bleu de toluidine (pH : 11) pour la topographie, soit au bleu de méthylène-azur II-fuchsine basique pour la coloration spécifique des lipides.

RÉSULTATS

Déroulement des élevages

Les élevages réalisés à 17°C et à 20°C (mais à des saisons différentes) n'ont pas montré de différences chronologiques dans le déroulement des divers stades larvaires. On peut donc utiliser les résultats des uns et des autres sans correction.

Les lots d'élevage maintenus à jeun ont tous montré une mortalité supérieure à la normale à partir du 6^e jour. Cette mortalité a dépassé 50% entre le 10^e et le 18^e jour et, en conséquence, les élevages correspondants ont été supprimés.

Croissance

La croissance en longueur de la coquille ne peut être établie qu'à partir du 2^e jour. En effet, un diamètre d'œuf ou d'embryon n'est pas comparable à une longueur de coquille : la période endotrophique exclusive échappe donc à ce critère. Du 2^e jour au 15^e jour, le taux de croissance est sensiblement constant et les courbes obtenues pour les différents régimes ne montrent pas de différences significatives : seule la courbe de croissance des larves nourries avec *Isochrysis galbana* a été représentée (fig. 2).

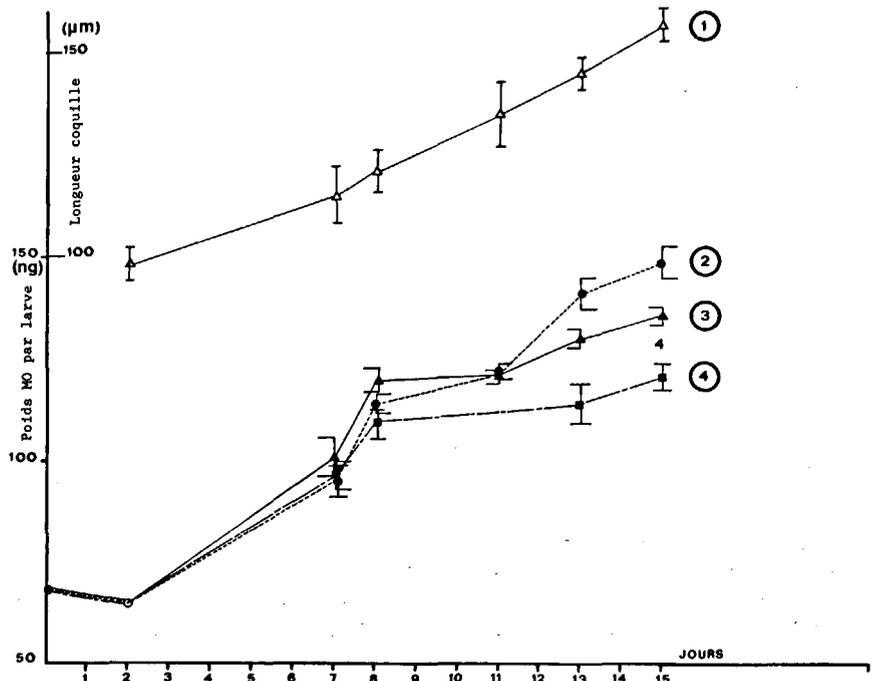


Figure 2

Croissance des larves nourries. Courbe 1 : croissance de la longueur L de la coquille (lot nourri avec *Isochrysis galbana*) — Courbe 2 : croissance pondérale de MO rapportée à une larve (lot nourri avec *Pavlova lutheri*) — Courbe 3 : idem (lot nourri avec *Isochrysis galbana*) — Courbe 4 : idem (lot nourri avec *Dunaliella primolecta*). Température d'élevage : 17°C .

Growth of fed larvae. Curve 1: increase in shell length (L: batch fed with *Isochrysis galbana*)—Curve 2: growth of organic matter calculated for a single larva (batch fed with *Pavlova lutheri*)—Curve 3: the same (batch fed with *Isochrysis galbana*)—Curve 4: the same (batch fed with *Dunaliella primolecta*). Temperature 17°C .

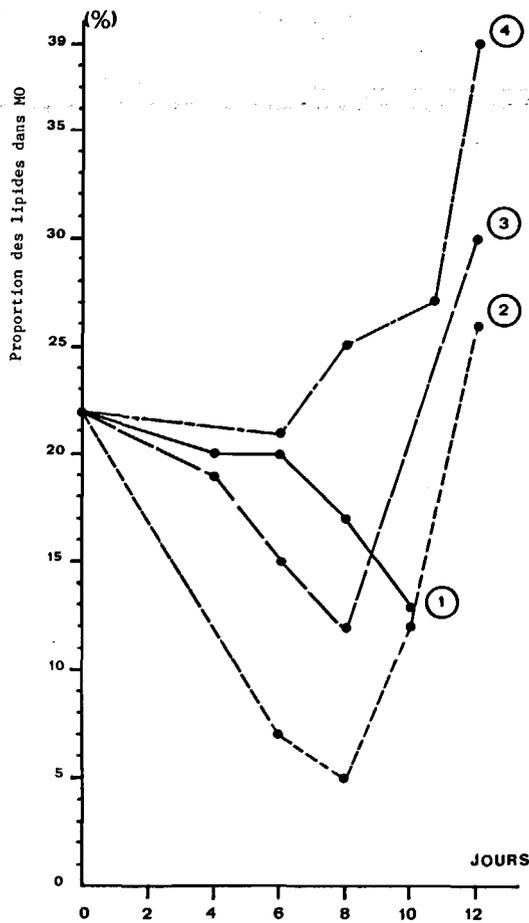


Figure 3
Proportions de lipides par rapport à MO, observées dans différents lots. Courbe 1 : larves à jeun — Courbe 2 : larves nourries du mélange *Pavlova lutheri* et *Isochrysis galbana* — Courbe 3 : larves nourries de *Pavlova lutheri* — Courbe 4 : larves nourries du mélange *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* et *Dunaliella primolecta*. Température d'élevage : 20°C.

Lipid as a proportion of the total organic matter, observed in different batches. Curve 1: unfed larvae—Curve 2: larvae fed with *Pavlova lutheri* and *Isochrysis galbana*—Curve 3: larvae fed with *Pavlova lutheri*—Curve 4: larvae fed with *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* and *Dunaliella primolecta*. Temperature: 20°C.

Le taux de croissance pondérale (MO) est variable en fonction du temps (fig. 2) : décroissance de l'œuf à la larve de 2 jours, forte croissance du 2^e au 8^e jour, palier du 8^e au 13^e jour, reprise de la croissance après le 13^e jour. La différence de croissance entre les trois sortes de nourriture ne devient sensible qu'à partir du 8^e jour.

Lipides

L'évolution de la proportion des lipides dans la matière organique montre que les larves à jeun dépensent moins vite leurs lipides que certains lots nourris (fig. 3). Parmi ces derniers, on remarque surtout qu'à partir du 6^e ou du 8^e jour, le taux de lipides, précédemment en baisse, s'élève rapidement.

Les individus examinés par la méthode colorimétrique ont été classés dans les quatre catégories décrites précédemment. Cependant, dans un but de simplification, les deux premières catégories ont été regroupées : on établit ainsi le pourcentage des larves « fortement

Tableau 1

Proportions (en %) de larves fortement colorées par le noir Soudan (catégories 1 + 2 de la figure 1). P = *Pavlova lutheri*; I = *Isochrysis galbana*; D = *Dunaliella primolecta*.

Percentages of larvae intensely coloured by black Sudan B (class 1 + 2 on Fig. 1).

Age (jours)	Larves à jeun	Larves nourries par		
		P	P + I	P + I + D
4	79	78	80	
6	72	65	48	76
8	54	57	40	78
10	37	75	53	81
12		86	71	71

colorées » et donc riches en lipides (tab. 1). Ces pourcentages confirment les résultats précédents : les larves à jeun perdent lentement leurs lipides et chez les larves nourries, le 6^e ou 8^e jour représente le taux le plus bas de coloration.

Histologie

Sur les coupes de larves, on constate l'existence d'inclusions sphériques de nature lipidique, qui se situent dans divers organes : base du vélum, manteau, glande digestive et paroi de l'estomac. Ces inclusions, très abondantes sur les larves de deux jours (tab. 2), ont tendance à diminuer en nombre et en taille dans tous les organes, sauf dans la glande digestive : celle-ci apparaît comme l'organe de réserves lipidiques. On peut noter une similarité des résultats entre le 8^e et le 18^e jour et, par contre, une forte différence entre le 4^e et le 8^e jour.

Tableau 2

Diamètres des inclusions lipidiques observées sur des larves nourries et âgées de 2 à 18 jours. Les parenthèses indiquent que les inclusions sont peu nombreuses.

Diameter of lipid globules observed in 2-18 day old fed larvae. When the globules are not numerous, numbers are in brackets.

Age des larves	2 jours (µm)	4 jours (µm)	8 jours (µm)	18 jours (µm)
Base du velum	5-6	1,5-4,5	(1-3)	néant
Glande digestive	5-6	4,5-6	(4,5-6)	5-7
Paroi de l'estomac	2-3	1-1,5	(1-2,5)	(1-2)
Manteau	2-3	1-2	néant	néant

DISCUSSION

Le jeûne

On aurait pu penser que les larves à jeun n'ayant que le vitellus comme source de nourriture, seraient les témoins du temps d'utilisation de ce vitellus. Or, les faits ne sont pas apparus aussi simples.

Dans nos expériences, les larves à jeun ne nageaient généralement pas (sauf les deux premiers jours) et demeuraient le plus souvent immobiles sur le fond. Bayne (1983) a fait la même observation. Or, d'après Zeuthen (1947), la plupart des larves pélagiques doublent leur consommation d'oxygène quand elles passent du repos à la nage. En conséquence, le catabolisme ralenti des lots à jeun a pour effet de prolonger le temps d'utilisation des réserves vitellines par rapport à des larves actives.

En outre, ces larves peuvent absorber une faible quantité de nourriture soit par osmotrophie (voir ci-après), soit par ingestion de bactéries. En effet, dans tout élevage, les bactéries atteignent une densité d'au moins 10^4 bactéries ml^{-1} et le rôle trophique des bactéries a été maintes fois démontré (Carriker, 1956; Hidu, Tubiash, 1963; Martin, Mengus, 1977; Mengus, 1978; Prieur, 1981; 1982; 1983; Diss-Mengus, Cahet, 1982).

Dans ces conditions, les temps observés de survie au jeûne : 10 à 18 jours à 20°C dans ce travail, 20 à 30 jours chez *Mytilus edulis* à 15-16°C (Bayne, 1976) jusqu'à 25 jours chez *Mytilus galloprovincialis* à 20°C (Masson, 1977), de 10 à 14 jours chez *Crassostrea virginica* à 21-23°C (Davis, 1953), ne correspondent pas à l'utilisation normale du vitellus chez des larves correctement nourries. Ainsi, les lots de larves à jeun ne peuvent servir de lots témoins pour l'étude du passage de l'endotrophie à l'exotrophie.

La croissance en longueur (L) de la coquille

La courbe de croissance en longueur de la coquille, du 2^e au 15^e jour, est très voisine d'une droite en coordonnées arithmétiques. Une telle constatation n'est pas nouvelle, elle a été faite par la plupart des auteurs ayant établi des courbes de croissance larvaire : Davis (1953) sur *Crassostrea virginica*, Ansell (1961) sur *Venus striatula*, Carriker (1961) sur *Mercenaria mercenaria*, Walne (1965) sur *Ostrea edulis*, Bayne (1965) sur *Mytilus edulis*, Masson (1977) sur *Mytilus galloprovincialis*, Helm (1977) et Wilson (1978) sur *Ostrea edulis*, Breeze et Robinson (1981) sur *Siliqua patula*, Jespersen et Olsen (1982) sur *Mytilus edulis*, Lutz et al. (1982) sur *Arctica islandica*, Sprung (1984) et Aldana Aranda (1984) sur *Mytilus edulis*. Bayne (1983) estime que la croissance en longueur chez les larves de bivalves est linéaire quand les conditions d'élevage sont optimales. Cette opinion, largement partagée, implique que cette courbe ne montre aucune fluctuation lors du passage de l'endotrophie à l'exotrophie.

Calcul et valeurs de MO

Les valeurs de MO sont déduites des mesures pondérales effectuées sur MI et sur le poids total de matière sèche. La précision de ces mesures, compte tenu de la sensibilité de la balance (10 μg), est satisfaisante quand on travaille sur environ 7 500 ovocytes ou larves : en effet, tandis que le poids d'un filtre est en moyenne de 26 mg, le poids des ovocytes est alors de 517 μg et celui des larves de 2 jours de 745 μg . On peut donc considérer que les fluctuations des valeurs de MO correspondent bien à des phénomènes réels.

La légère chute de poids de MO entre l'ovocyte et la larve D s'explique par la respiration, qui a provoqué l'élimination d'une partie des réserves vitellines. Ce fait peut être retrouvé dans Sprung (1984). Cet auteur constate une chute du poids de MO de 12,3% entre l'œuf et la larve D. Cette chute de poids, pendant la phase endotrophe, est plus élevée que celle que nous avons constatée : 3,5 ng, ce qui représente, par rapport au poids initial, une perte de 5,2%.

A partir du 2^e jour, les larves se nourrissent et l'augmentation du poids de MO, par individu, est très rapide comme l'attestent les résultats des 7^e et 8^e jours. Après le 8^e jour, il y a tassement de la croissance de MO comme cela se confirme les 11^e, 13^e et 15^e jours. Cette rupture du rythme de croissance de MO le 8^e jour laisse supposer un changement de métabolisme. C'est aussi à partir du 8^e jour que l'on constate des différences de croissance entre les lots recevant des nourritures algales différentes, ce qui montre l'influence désormais prépondérante de la source exogène.

Les lipides

Les résultats obtenus par la méthode colorimétrique *in toto* et la microanalyse gravimétrique sont concordants : il y a une diminution du taux de lipides (par rapport à MO) jusqu'au 8^e jour, et par la suite, chez les larves nourries, ce taux s'élève. On peut interpréter les valeurs minimales du 8^e jour comme la fin de l'utilisation du vitellus (riche en lipides) et admettre que, par la suite, le taux de lipides augmente par suite de la néoformation de réserves lipidiques.

Si l'on se reporte aux articles de synthèse de Holland (1978), Lucas (1982), Bayne (1983) et Gabott (1983), les réserves seraient essentiellement de nature lipidique chez les larves de bivalves. Cependant, cette opinion est surtout basée sur des travaux originaux effectués sur des larves d'*Ostrea edulis* (Millar, Scott, 1967; Holland, Spencer, 1973; Gabbott, et Holland, 1973; Holland, Hannant, 1974). Or, cette espèce est larvipare et les études ont porté sur les larves libres donc plus âgées. Chez l'espèce ovipare *Crassostrea gigas*, Waldock et Nascimento (1979) accordent aussi un rôle prépondérant aux lipides à la fin de la vie larvaire. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été consacrée à l'analyse détaillée des taux de lipides au début du développement larvaire chez les ovipares.

Histologie

Des études histologiques sur les jeunes larves de bivalves ont été réalisées par Meisenheimer (1901) sur *Dreissensia polymorphe*, Yonge (1926) et Millar (1955) sur *Ostrea edulis*, Creek (1960) sur *Cardium edule*, Allen (1961) sur *Pandora inaequalis*, Ansell (1962) sur *Venus striatula*, Masson (1975) sur *Mytilus galloprovincialis*, Elston (1980) sur *Crassostrea virginica*, Rangel Davalos (1984) sur *Mytilus edulis* et *Pecten maximus*. Tous ces auteurs ont montré la précocité de l'organogenèse larvaire et en particulier celle de l'appareil digestif qui comporte notamment un estomac volumineux avec bouclier et sac du stylet cristallin et une glande digestive constituée de cellules digestives, sécrétrices et indifférenciées. Certains de ces auteurs, en particulier ceux qui ont fait des observations en microscopie électronique, ont montré que les cellules de la glande digestive et, parfois, celles du bouclier gastrique, pouvaient contenir des inclusions lipidiques (Masson, 1975; Elston, 1980; Rangel Davalos, 1985) mais aucun des auteurs cités n'a suivi l'évolution des inclusions lipidiques au cours du développement larvaire.

On constate qu'entre le 2^e et le 8^e jour, il y a eu une forte réduction des inclusions lipidiques, tandis qu'entre

le 8^e et 18^e jour, il n'existe que de faibles différences : ainsi, le 8^e jour apparaît comme la fin de l'utilisation des premiers globules lipidiques dans la larve, tandis que les inclusions plus nombreuses dans la glande digestive, au 18^e jour, apparaissent comme des néoformations. Ce dernier constat correspond à l'augmentation du taux de lipides après le 8^e jour, établie par la méthode gravimétrique.

Osmotrophie

Ce phénomène n'a pas été étudié dans le présent travail, mais ne peut être éludé. En effet, l'absorption de substances dissoutes, en particulier organiques SOD, telles que les acides aminés, est un fait bien établi chez les invertébrés marins (Ferguson, 1982). Elle est particulièrement active au début du développement, par exemple pendant la phase endotrophe chez l'oursin *Arbacia lixula* (Pavillon, 1983).

Chez les larves de bivalves, le phénomène a été signalé par Rice *et al.* (1980) sur *Ostrea edulis* et Gustafson (1980) sur *Mya arenaria*. Cependant, c'est à Manahan et Crisp (1982) que l'on doit une évaluation précise de la part de cette absorption dans le régime de la larve. Selon ces auteurs, la SOD absorbée couvrirait environ 10% des synthèses protéiques de la larve. Ce résultat sera adopté ci-après.

Élaboration d'un modèle synthétique

Les méthodes suivantes : valeur de la MO, taux des lipides totaux, histologie, n'apportent pas séparément de réponse décisive sur les modalités du passage de l'endotrophie à l'exotrophie, mais la convergence des résultats des trois méthodes permet d'établir les constatations suivantes :

Le passage de l'endotrophie à l'exotrophie est progressif et la première prise de nourriture a lieu alors que les réserves vitellines sont encore conséquentes : ceci est confirmé par l'étude histologique par l'analyse gravimé-

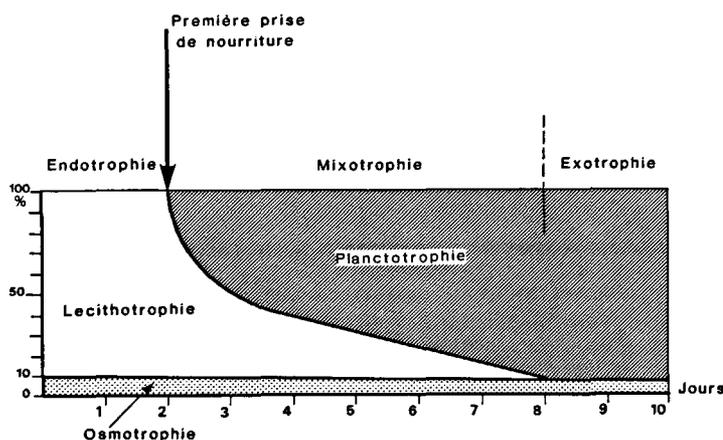


Figure 4

Proportions des diverses sources de nourriture organique chez les larves de *Mytilus edulis* élevées à 17-20°C. Modèle établi d'après les résultats du présent travail (pour la lécithotrophie et la planctotrophie) et les données de la littérature (osmotrophie). Voir texte.

Relative importance of the different organic feeding sources in *Mytilus edulis* larvae reared at 17-20°C. The model is based on results from the present work (for lecithotrophy and planktotrophy) and on published data (osmotrophy). See text.

trique des lipides, par la coloration des lipides *in toto*, et explique les fluctuations de la courbe pondérale de la matière organique (MO).

Chez *Mytilus edulis*, la chronologie du phénomène a pu être précisée pour les températures de 17-20°C : l'endotrophie stricte dure deux jours, la larve véligère âgée de deux jours commence à ingérer des aliments (fait vérifié par observation au microscope à épifluorescence) et continue de le faire par la suite, tandis que des réserves vitellines sont encore présentes : c'est une période qui peut être considérée comme « mixotrophe ». Vers le 8^e jour, les réserves vitellines semblent être devenues négligeables et c'est alors qu'on peut placer le début de la phase endotrophe. Enfin, tout au long de cette période, et particulièrement pendant la phase initiale, l'organisme absorbe des SOD (Manahan, Crisp, 1982). La figure 4 synthétise graphiquement l'ensemble de ces résultats.

CONCLUSION

La voie choisie dans cette étude a été l'analyse aussi précise que possible de l'évolution des structures et de la physiologie de l'organisme au début de son développement. Comme on l'a vu, certaines mesures comme la longueur de la coquille, ou les effets du jeûne, pourtant largement utilisées, ne livrent aucun indice sur le problème posé. Cependant, il a été possible d'établir un modèle synthétique du phénomène, grâce à la convergence des résultats fournis par deux mesures métaboliques et une observation structurale. Or, ces types d'observation et de mesure sont rarement appliqués aux larves pour diverses raisons. Le calcul de MO et du taux de lipides exige de 7 500 à 10 000 larves pour chaque mesure et fait usage de moyens techniques relativement élaborés. Les difficultés techniques ne sont pas non plus négligeables pour obtenir des coupes semi-fines correctement colorées sur des jeunes larves qu'il faut préalablement décalcifier. Malgré ces difficultés, la méthode adoptée de recourir simultanément à l'histologie et à la biochimie s'est révélée fructueuse.

Le modèle mis au point pour *Mytilus edulis* élevé à 17-20°C est applicable à la majorité des bivalves ovipares et vraisemblablement à la plupart des invertébrés marins ovipares ayant des réserves vitellines. Par contre, il ne peut être utilisé tel quel pour les bivalves larvipares comme *Ostrea edulis*, où la période endotrophe apparaît plus longue. Enfin, chez les poissons, il semble que la période mixotrophe soit très brève : ainsi, chez la morue *Gadus morhua*, la bouche n'apparaît qu'au 4^e jour tandis que le sac vitellin est totalement résorbé au 6^e jour (Thompson, Riley, 1981).

Outre son intérêt fondamental, la connaissance du passage de l'endotrophie à l'exotrophie présente aussi un intérêt pratique : elle permet de déceler les processus impliqués dans une phase relativement critique et de mieux préciser quelle nourriture doit être fournie au moment voulu et en quantité voulue. En particulier, pour les élevages de larves de bivalves, il apparaît que l'apport de nourriture, qui est toujours source de perturbation, ne doit pas être effectué avant le 2^e jour et qu'il doit être très modéré jusqu'au 8^e jour.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement pour leur aide, M. Laubier qui a revu le manuscrit et M. Salaun qui a dessiné la figure 1.

RÉFÉRENCES

- Aldana Aranda D., 1984. Croissance et composition chimique élémentaire de larves de *Mytilus edulis* en relation avec la nourriture fournie, *J. Rech. Océanogr.*, **9**, 4, 153-155.
- Allen J. A., 1961. The development of *Pandora inaequalis* (L.), *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **9**, 2, 252-268.
- Ansell A. D., 1962. Reproduction, growth and mortality of *Venus striatula* (Da Costa) in the Kames Bay Millport, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **41**, 191-215.
- Bayne B. L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.), *Ophelia*, **2**, 1-47.
- Bayne B. L., 1976. The biology of mussel larvae, in: *Marine mussels: their ecology and physiology*, edited by B. L. Bayne, IBP 10, Cambridge Univ. Press, London, 81-120.
- Bayne B. L., 1983. Physiological ecology of marine molluscan larvae, in: *The Mollusca. Vol. 3, Development*, Academic Press.
- Beninger P. G., Lucas A., 1984. Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve), *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **79**, 19-37.
- Bougis P., 1967. Utilisation des pluteus en écologie expérimentale, *Helgol. Wiss. Meeresunters.*, **15**, 59-68.
- Breeze W. P., Robinson A., 1981. Razor clams *Siliqua patula* (Dixon): gonadal development, induced spawning and larval rearing, *Aquaculture*, **22**, 27-33.
- Carriker M. R., 1956. Biology and propagation of young hard clams, *Mercenaria mercenaria*, *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, **72**, 57-60.
- Carriker M. R., 1961. Interrelation of functional morphology, behaviour and autoecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*, *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, **77**, 168-241.
- Creek G. A., 1960. The development of the lamellibranch *Cardium edule* L., *Proc. Zool. Soc. London*, **135**, 243-261.
- Davis H. C., 1953. On food and feeding of larvae of the American oyster, *C. Virginica*, *Biol. Bull.*, **104**, 334-350.
- Diss Mengus B., Cahet G., 1982. Préliminaires à l'étude de l'assimilation d'un composé marqué par les larves de *Mytilus galloprovincialis* en élevages expérimentaux, *Malacologia*, **22**, 1-2, 643-651.
- Elston R., 1980. Functional anatomy, histology and ultrastructure of the soft tissues of the larval american oyster *Crassostrea virginica*, *Proc. Natl. Shellfish Assoc.*, **70**, 65-93.
- Ferguson J. C., 1982. A comparative study of the net metabolic benefits derived from the uptake and releases of free amino acids by marines invertebrates, *Biol. Bull.*, **162**, 1-17.
- Folch J., Lees M., Stanley G. H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509.
- Gabbott P. A., 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs, in: *The mollusca. Vol. 2, Environmental biochemistry and physiology*, Academic Press, 165-217.
- Gabbott P. A., Holland D. L., 1973. Growth and metabolism of *Ostrea edulis* larvae, *Nature*, **241**, 475-476.
- Gallager S. C., Mann R., 1981. Use of lipid-specific staining techniques for assaying condition in cultured bivalve larvae, *J. Shellfish Res.*, **1**, 1, 69-73.
- Gustafson R. G., 1980. Dissolved amino acids in the nutrition of the larvae of the soft-shell clam *Mya arenaria*, *M. Sci. Thesis, Univ. Maine, Orono, USA*.
- Helm M. M., 1977. Mixed algal feeding of *Ostrea edulis* larvae with *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica*, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **57**, 1019-1029.
- Hidu H., Tubiash H. S., 1963. A bacterial basis for the growth of antibiotic-treated bivalve larvae, *Proc. Natl. Shellfish Assoc.*, **54**, 25-39.
- Holland D. L., 1978. Lipid reserves and energy metabolism in the larvae of benthic marine invertebrates, in: *Biochemical and biophysical perspective in marine biology*, **3**, 85-123.
- 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. Assoc. UK*, **53**, 287-298.
- Holland D. L., Hannant P. J., 1974. Biochemical changes during growth on the spat of the oyster *Ostrea edulis* L., *Mar. Biol. Assoc. UK*, **54**, 1007-1016.
- Jespersen H., Olsen K., 1982. Bioenergetics in veliger larvae of *Mytilus edulis* L., *Ophelia*, **21**, 101-113.
- Loosanoff V. L., Davis H. C., 1963. Rearing of bivalve larvae, *Adv. Mar. Biol.*, **1**, 1-136.
- Lucas A., 1982. La nutrition des larves de bivalves, *Oceanis*, **8**, 5, 363-388.
- Lucas A., 1984. Développement contrôlé des bivalves marins, *Haliotis*, **14**, 143-158.
- Lucas A., Rangel C., 1981. Vitesses d'ingestion et de digestion du phytoplancton observées au microscope à épifluorescence chez les larves de *Mytilus edulis* (L.), *Haliotis*, **11**, 171-180.
- Lutz R. A., Mann R., Goodsell J. G., Castagna M., 1982. Larval and early post-larval development of *Arctica islandica*, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **62**, 745-769.
- Manahan D. J., Crisp D. J., 1982. The role of the dissolved organic material in the nutrition of the pelagic larvae; amino acid uptake by bivalve veligers, *Am. Zool.*, **22**, 635-646.
- Martin Y., Mengus B., 1977. Utilisation de souches bactériennes sélectionnées dans l'alimentation des larves de *Mytilus galloprovincialis* Lmk (mollusque bivalve) en élevages expérimentaux, *Aquaculture*, **10**, 253-262.
- Masson M., 1975. Étude expérimentale de la croissance et de la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* (L.) (mollusque pélecypode), *Thèse 3^e cycle, Univ. Caen*, 91 p.
- Masson M., 1977. Observations sur la nutrition des larves de *Mytilus galloprovincialis* avec des aliments inertes, *Mar. Biol.*, **40**, 157-164.
- Meisenheimer J., 1901. Enwicklungen chichte von *Dreissensia polymorpha* Pall, *Zeit. Wiss. Zool.*, **69**.
- Mengus B., 1978. Rôle des bactéries dans l'alimentation des larves de mollusques bivalves marins en élevages expérimentaux, *Thèse 3^e cycle, Univ. Aix-Marseille II*, 135 p.
- Millar R. H., 1955. Notes on the mechanism of food movement in the gut of the larval oyster, *Ostrea edulis*, *Quart. Jour. Microsc.*, **96**, 4, 539-544.
- Millar R. H., Scott J. M., 1967. The larva of the oyster *Ostrea edulis* during starvation, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **47**, 475-484.
- Myers J., 1962. Laboratory cultures, in: *Physiology and biochemistry of algae*, R. A. Lewin, ed., New York and London, 603-615.
- Pavillon J. F., 1983. Contribution à l'étude de l'importance écologique des substances organiques dissoutes pour les œufs et les larves d'invertébrés marins et lagunaires, *Thèse Doct. État, Univ. Paris VI*, Vol. 1, 91 p.
- Prieur D., 1981. Nouvelles données sur les relations entre bactéries et bivalves marins, *Haliotis*, **11**, 251-260.
- Prieur D., 1982. Étude expérimentale de l'installation d'une microflore associée au tractus digestif de la moule *Mytilus edulis*, *Actes Colloq. CNEOX*, **13**, 97-104.
- Prieur D., 1983. Ingestion and digestion of bacteria by the larvae of the mussel *Mytilus edulis*, *Jour. Mollusc. Stud., Suppl.* **12A**, 149-153.
- Rangel Davalos C., 1984. Contribution à l'étude de l'ingestion et de la digestion d'algues unicellulaires chez les larves véligères des bivalves, *Thèse 3^e cycle, Univ. Bretagne Occidentale, Brest*, 2 vol., 134 p.
- Rice M. A., Wallis K., Stephens G. C., 1980. Influx and netflux of amino acids into larval of juvenile European flat oysters *Ostrea edulis* L., *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **48**-51-59.
- Sprung M., 1984. Physiological energetics of mussel larvae *Mytilus edulis*. I - Shell growth and biomass, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **17**, 283-293.
- Thompson B. M., Riley J. D., 1981. Egg and larval development studies in the north sea cod (*Codrus morhua* L.), *Rapp. PV Réunion. Cons. Int. Explor. Mer*, **178**, 553-559.
- Ukeles R., 1973. Continuous culture: a method for the production of unicellular algal food. Handbook of physiological methods. Cultures methods and growth measurements, **15**, 233-255.
- Waldock M. J., Nascimento I. A., 1979. The triacylglycerol composition of *Crassostrea gigas* larvae fed on different algal diets, *Mar. Biol. Lett.*, **1**, 77-86.
- Walne P. R., 1965. Observations on the influence of food supply and temperature on the feeding and growth of the larvae of *Ostrea edulis* L., *Fish. Invest. London, Ser. 2*, **24**, 1, 1-45.
- Walne P. R., 1966. Experiments in the large culture of the larvae of *Ostrea edulis*, *Fish. Invest. Ser. 2*, **25**, 1-53.
- Wilson J. H., 1978. The food value of *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin to the larvae of *Ostrea edulis* L. and *Crassostrea gigas* Thunberg, *Aquaculture*, **13**, 313-323.
- Yonge C. M., 1926. Structure and physiology of the organs of feeding and digestion in *Ostrea edulis*, *J. Mar. Biol. Assoc. UK*, **14**, 295-386.
- Zeuthen E., 1947. Body size and metabolic rate in the animal kingdom with special regard to the marine microfauna, *C. R. Trav. Lab. Carsberg*, **26**, 17-161.