

INDUCTION DE LA METAMORPHOSE DE LA COQUILLE SAINT JACQUES Pecten maximus L.
PAR DES DERIVES DE LA TYROSINE EXTRAITS
DE L'ALGUE Delesseria sanguinea LAMOUROUX OU SYNTHETIQUES

par

J.C. COCHARD*, L. CHEVOLOT**¹, J.C. YVIN* et A.M. CHEVOLOT-MAGUEUR*¹

* IFREMER, Centre de Brest, BP 70, 29263 PLOUZANE (France)

** U.A. 322 CNRS, Université de Bretagne Occidentale, 6 Avenue Le Gorgeu, 29287 Brest
Cedex (France)

ABSTRACT : INDUCTION OF METAMORPHOSIS OF THE SCALLOP Pecten maximus L. BY RED
ALGAE EXTRACTS. DETERMINATION OF JACARANONE AS THE INDUCER PRESENT IN Delesseria
sanguinea Lamouroux

When reared in stagnant water Pecten maximus L. larvae will usually delay metamorphosis. Although this species has no substrate-specific recruitment, crude aqueous extracts of the red algae Delesseria sanguinea Lamouroux improved metamorphosis of this species in 7 day experiments conducted in 400 ml glass beakers. Settlement rate and mortality depended on extract concentration in sea water. A series of experiments conducted to isolation of purified jacaranone, the metamorphosis inducer in Delesseria sanguinea. Synthetic jacaranone revealed a similar activity. Optimal concentration of this inducer was found to be 0,5 mg/l ($3 \cdot 10^{-6}$ M). At higher concentrations reduced metamorphosing rate was related to enhanced mortality. Jacaranone, the first bivalve metamorphosis inducer isolated from an alga, is a methylated derivative of quinolacetic acid intermediate compound from the catabolism of tyrosin. Further experiments revealed that parahydroxyphenylacetic acid, homogentisic acid, L-DOPA and Epinephrin were active at concentrations ranging from 5 to $7 \cdot 10^{-6}$ M. The mechanism involved in induction is discussed.

RESUME :

Les larves de la coquille Saint-Jacques Pecten maximus L. élevées en eau de mer stagnante ont généralement une métamorphose retardée. Ces larves ne paraissent pas rechercher un substrat de fixation précis, mais les extraits aqueux de Delesseria sanguinea Lamouroux introduits provoquent une augmentation significative des taux de métamorphose et de la mortalité en fonction de la concentration des extraits dans l'eau de mer. Une série d'expériences a permis d'identifier l'agent inducteur des extraits de Delesseria sanguinea, la jacaranone. Ce produit obtenu par synthèse révèle une activité équivalente. La concentration optimale est de 0,5 mg.l⁻¹ ($3 \cdot 10^{-6}$ M) ; aux concentrations plus élevées la réduction du taux de métamorphose constatée est due à une augmentation de la mortalité. La jacaranone, le premier inducteur de la métamorphose d'un bivalve isolé, d'une algue, est un dérivé méthylé de l'acide quinolacétique produit du catabolisme de la tyrosine. Deux autres composés de cette voie métabolique se sont révélés actifs, l'acide parahydroxyphénylpyvurique et l'acide homogentisique. L'activité de ces composés a été comparée à celle des catécholamines connues pour leur activité inductrice chez les bivalves. Cinq composés dérivant de la tyrosine induisant la métamorphose de Pecten maximus a des concentrations comprises entre 3 et $7 \cdot 10^{-6}$ M sont ainsi identifiés : la jacaranone, l'acide parahydroxyphénylpyvurique, l'acide homogentisique, la L-DOPA, l'adrénaline, leur mode d'action est discuté.

Mots clés : induction, métamorphose, coquille Saint-Jacques, jacaranone, Pecten maximus, L-DOPA, adrénaline.

Key words : induction, metamorphosis, scallop, jacaranone, Pecten maximus, L-DOPA epinephrin.

INTRODUCTION

La métamorphose de nombreux invertébrés marins peut être déclenchée ou stimulée par des substances chimiques spécifiques (Crisp, 1974 ; Burke, 1983 ; Morse, 1985). La démonstration de cette induction a été réalisée sur des espèces présentant une très forte affinité pour un substrat particulier. Ainsi, la fixation et la métamorphose de l'hydrozoaire Coryne uchidai qui s'attache préférentiellement à l'algue Sargassum tortile sont déclenchées par le δ -tocotrienol isolé de ce végétal (Kato et al., 1975). De même le nudibranche Phestilla sibogae, prédateur du corail Porites compressa, se métamorphose en présence de l'eau environnant ce dernier dans la nature ou d'extraits très dilués de cette espèce (Hadfield, 1978 ; 1984 ; Hadfield et Sheuer, 1985) chez l'ormeau Haliotis rufescens qui se fixe sélectivement sur des algues encroûtantes des genres Lithophyllum, Lithothamnium, Hildenbrandia (Morse et al., 1980a) la métamorphose des larves peut être induite par un neurotransmetteur l'acide gamma aminobutyrique (Morse et al., 1980a ; 1980b). Morse et Morse (1984) ont récemment montré que l'inducteur naturel était une phycobiloprotéine provenant de la surface des algues citées. Les acides γ aminobutyrique et δ aminovalérique (Morse et al., 1979) qui présentent des analogies structurales avec les phycoérythrine déclencheraient le processus de métamorphose en se fixant sur les récepteurs cellulaires qui permettent à la larve de reconnaître son substrat de fixation. Ce mécanisme paraît être généralisable à l'ensemble des ormeaux (Morse, 1984) malgré les réserves formulées par Akashige et al. (1981) concernant l'espèce japonaise Haliotis discus hannai.

Chez les bivalves la relation entre la larve et son substrat de fixation apparaît moins déterminante dans la mesure où le choix n'est pas lié à une source alimentaire précise comme c'est le cas chez les ormeaux ou surtout chez le prédateur nudibranche Phestilla sibogae déjà cité. Les huîtres présentent cependant une affinité importante pour leurs congénères et il a ainsi été montré par Veitch et Hidu (1971) et Crisp (1977) que la métamorphose est déclenchée par des molécules de poids moléculaire élevé adsorbées sur le support ou présentes à la surface de la coquille de l'adulte. Des molécules de faible poids moléculaire ont cependant une activité inductrice connue. Nielson (1973) a ainsi constaté que l'acétazolamide provoquait la fixation d'Ostrea lutaria et surtout Coon et al. (1985 ; 1986) ont montré que les catécholamines L-DOPA, adrénaline et noradrénaline induisaient la métamorphose de Crassostrea virginica et C. gigas.

Chez la coquille Saint Jacques Pecten maximus aucune spécificité de fixation n'a été constatée. Mason (1958), Eggleston (1962), Minchin (1980, 1981) ont noté la présence de très jeunes naissains sur une grande variété de supports inertes, pierres ou débris de coquilles, mais aussi vivants comme les algues Chorda filum, Laminaria saccharina, Polysiphonia sp., Desmarestia aculeata, et les colonies de diverses espèces de bryozoaires et d'hydriaires. Par ailleurs des collecteurs de matière plastique se révèlent efficaces pour le captage de cette espèce (Buestel et al., 1977 ; Buestel, 1979 ; Brand et al., 1980 ; Minchin, 1981). Cette diversité de substrat a amené Eggleston (1962) et Brand et al. (1980) à conclure que le facteur déterminant de la fixation est la nécessité pour la larve de trouver un support propre situé au-dessus du fond qui lui permettrait d'échapper à l'envasement pendant sa phase sessile.

En élevage artificiel le déclenchement de la métamorphose est réalisé efficacement en circuit ouvert (Buestel et al., 1982). En milieu confiné, Roman et Perez (1976) et Buestel et al. (1977) ont constaté que la métamorphose pouvait s'étaler sur une période de temps extrêmement longue. Par exemple Buestel et al. (1977) notent que 28 jours après l'apparition des premières postlarves dans leurs élevages 68 % des individus étaient encore au stade pédivéligère. Ces retards s'apparentent à ceux constatés par Bayne (1965) chez la moule Mytilus edulis qui seraient causés par l'absence dans l'environnement de signaux déclenchant la métamorphose. Afin de déterminer si la métamorphose pouvait être favorisée par des substances solubles dans l'eau, des essais d'induction ont été conduits à partir d'extraits de quelques algues rouges. Sur l'une d'entre elle, faisant l'objet d'une étude de pharmacologie (Yvin, 1984), une substance active a été identifiée et son efficacité a été comparée à celle des substances déjà étudiée chez l'huître par Coon et al. (1985, 1986).

MATERIEL ET METHODES

- Les larves et la préparation à la métamorphose

Les larves pédivéligères de Pecten maximus ont été produites suivant des techniques dérivées de Loosanoff et Davis (1963) et de Gruffydd et Beaumont (1970, 1972) décrites par Buestel et al. (1982). La longueur moyenne des larves de P. maximus au moment de la métamorphose varie de 230 à 250 μm , à ce stade les larves sont retenues par un tamis de 150 μm de vide de mailles. Ce critère utilisé en routine pour le passage de l'écloserie à la nurserie où se produit la métamorphose a, pour des raisons pratiques, et malgré son caractère grossier, été le seul retenu pour les expériences décrites. Il est certain cependant qu'une majorité des larves ne pouvait pas être considérée comme réellement compétente au moment des expériences.

Les larves triées sont placées dans une éprouvette pendant une quinzaine de minutes. Seules les larves nageant dans les deux tiers supérieurs de la colonne d'eau seront utilisées, cette procédure a pour effet l'élimination des larves mortes, moribondes ou en cours de métamorphose. L'évaluation du nombre total d'animaux est réalisé par comptage de six échantillons de 100 microlitres prélevés dans un volume de 2 litres homogénéisé à l'aide d'un piston perforé.

Dans les expériences décrites, les larves ont été réparties dans des cristallisoirs contenant 400 ml d'eau filtrée à 0,45 μm (18°C, salinité 34-35 ‰) à raison d'environ 2000 individus par récipient. La prolifération bactérienne était limitée par adjonction de chloramphénicol (8 mg/l). Pendant toute la durée des expériences (8 jours) les larves étaient nourries d'un mélange de Pavlova lutheri et d'Isochrysis galbana (T iso) en proportions égales distribuées à chaque renouvellement de l'eau (intervalles de 48 h) à la concentration finale de 40 cellules par microlitre.

- Tests d'induction de la métamorphose

Les substances à tester, diluées dans le milieu à partir de solutions concentrées en 1 g.l⁻¹ ont été éliminées après un temps de contact de 48 heures, au premier renouvellement de l'eau. A cette occasion les larves étaient délicatement rincées à l'eau de mer filtrée sur le tamis de récupération (150 μm de vide de maille) de même que les récipients en

évitant de détacher les animaux fixés sur les parois. A ce stade des opérations (48 h) il est difficile de distinguer les larves en cours de métamorphose des pédivéligères, l'ensemble des lots a donc été maintenu en élevage pendant encore 6 jours afin que les postlarves puissent être identifiées par la présence de la dissoconque (coquille adulte). Les proportions de larves et postlarves mortes et vivantes ont été évaluées par comptage de 500 individus. Une transformation arcsinus a été appliquée aux données qui ont été comparées par une analyse de variance. Lorsque l'hypothèse d'égalité des moyennes des traitements a été rejetée, elles ont été classées par le test de Newman et Keuls.

- Préparation des extraits d'algues

Les algues ont été récoltées dans le goulet de la rade de Brest, seuls des sujets dépourvus d'épibiontes ont été retenus.

* Extraits aqueux

60 g de thalles frais soigneusement lavés à l'eau distillée ont été finement hachés et mis en suspension dans 300 ml d'eau distillée sous agitation pendant 24 h à température ambiante. Après filtration la solution a été lyophilisée. Les extraits pulvérulents obtenus de Dilsea carnosa, Delesseria sanguinea, Palmaria palmata, Polysiphonia elongata pesaient respectivement 3,85 g, 1 g, 2,20 g, 1,9 g.

* Préparation de l'extrait hydroalcoolique de D. sanguinea (Extrait A)

L'extraction hydroalcoolique permet l'élimination de l'essentiel des sels minéraux contenus dans la plante. 563 g de D. sanguinea lyophilisée ont donc été épuisés par 3 macérations successives (24 h) dans de l'éthanol à 70 %.

Les extraits hydroalcooliques obtenus (environ 20 l) ont été réunis et filtrés puis concentrés sous pression réduite jusqu'à 2 l environ.

L'extrait A ainsi obtenu a été extrait 3 fois par de l'éther diéthylique. Le résidu aqueux est l'extrait B. Les solutions étherées réunies ont été séchées sur Na_2SO_4 anhydre, filtrées puis distillées à sec. Le résidu vert foncé pâteux ainsi obtenu pèse 3,38 g (rendement 0,6 %) (extrait C).

* Fractionnement de l'extrait hydroalcoolique de D. sanguinea

L'extrait étheré précédemment obtenu a été ensuite chromatographié sur gel de séphadex LH 20 (colonne de 60 x 6 cm, 170 cm³ de gel environ) en utilisant comme éluant un mélange dichlorométhane-méthanol (50:50 V/V). Les premières fractions contenant des produits de masses moléculaires élevées n'ont pas été étudiées. Les fractions suivantes vertes ou jaune-vert ont été recueillies (1,4 g) et rassemblées. Cette fraction a été analysée soit en chromatographie liquide haute performance (CLHP) dans les conditions suivantes : 2 colonnes μ -Bondapak phenyl (Waters) montées en série ; éluant : $\text{H}_2\text{O}-\text{CH}_3\text{CN}-\text{MeOH}$ (75:20:5 V/V/V) ; débit : 1,5 ml/mn ; détection à 225 nm.

La séparation des différents constituants de cette fraction a été poursuivie sur une aliquote par chromatographie préparative sur couche épaisse de silice (2 plaques Merck 20 x 20 cm Kieselgel HF 254 + 366 ; épaisseur de la couche 1 mm ; éluant Cyclohexane - Ac OET 50:50 V/V). Deux fractions de polarité intermédiaire (D et E) ont été testées.

Les différents composés (1 : ester méthylique de l'acide p-hydroxy phénylacétique ; 2 : parahydroxy benzaldéhyde ; 3 : alcool p-hydroxy benzylique ; 4 : éther éthylique de 3 ; 5 : jacaranone ; 6 : délessérine) présents dans les fractions D et E sont isolés par CLHP semi-préparative (Yvin, 1984) à partir de ces fractions ou d'autres et individuellement testés.

Les structures des composés 1, 2, 3, 4, 5 ont été établies par spectrométrie de masse, de RMN, et I.R. et par comparaison avec des produits de référence (Yvin et al., 1985). La structure de la délessérine (6) a été décrite précédemment (Yvin et al., 1982).

* Composés de synthèse

La jacaranone a été synthétisée par une méthode précédemment décrite (Yvin et al., 1985 dérivée de celle de Siegel et Keickeis, 1953).

Les catécholamines ont été fournis par les laboratoires Sigma, la noradrénaline étant présentée sous forme d'arterenol.

RESULTATS

La figure 1 montre l'effet de deux doses différentes d'extrait aqueux de Dilsea carnosa, Palmaria palmata, Delesseria sanguinea, Polysiphonia elongata sur la métamorphose et la survie des larves de Pecten maximus. L'analyse de variance ayant révélé un effet traitement hautement significatif ($F_{9/10} = 20,36$), le test de Newman et Keuls appliqué aux données transformées permet de déceler une augmentation significative des taux de métamorphose dans les lots ayant reçu 5 et 2,5 mg/l d'extrait aqueux de Delesseria sanguinea et 2,5 mg/l d'extrait de Polysiphonia elongata. Tous les extraits se révèlent toxiques à la dose de 5 mg/l en particulier ceux de Dilsea carnosa. Il semble que l'on puisse considérer que la toxicité de Polysiphonia elongata soit responsable de la diminution du taux de métamorphose entre les doses de 2,5 et 5 mg/l.

L'expérience présentée (figure 2) avait pour objectif de préciser l'effet de l'extrait aqueux de D. sanguinea et d'amorcer l'étude du fractionnement de cet extrait. L'analyse de variance révélant une hétérogénéité des moyennes ($F_{12/15} = 18,47$), le classement par le test de Newman et Keuls au seuil de 5 % fait ressortir trois groupes principaux. L'extrait brut aux doses 20 et 15 mg d'extrait sec par litre et l'extrait C à la dose de 5 mg l^{-1} ne diffèrent pas significativement entre eux, il en va de même pour le témoin et les extraits aqueux ($2,5 \text{ mg l}^{-1}$ et 5 mg l^{-1}) et A ($2,5 \text{ mg l}^{-1}$). Les autres concentrations des différents

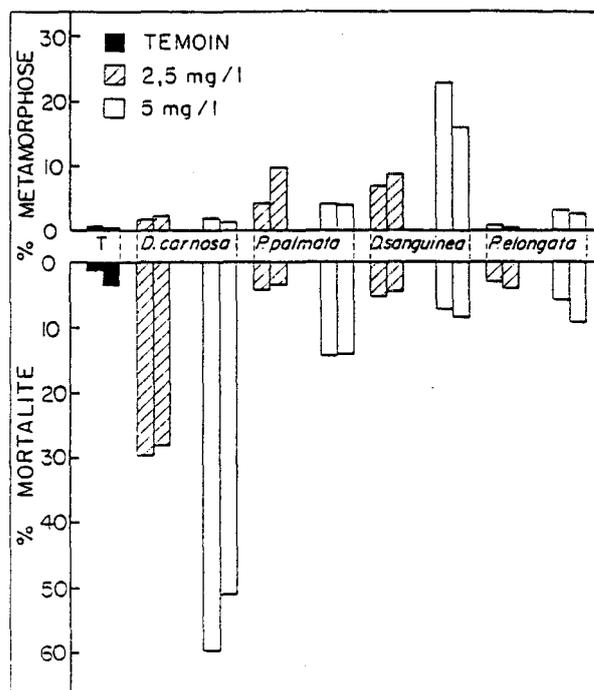


Fig. 1 : Induction de la métamorphose par des extraits aqueux de différentes espèces de Rhodophycées. Mesures effectuées par comptage de 500 individus par lot. Concentrations en mg d'extrait sec.l-1.

La figure 5 précise son effet sur les larves de coquille Saint-Jacques, les meilleurs taux de métamorphose sont obtenus aux doses de 0,5 et 1 mg.l⁻¹ soit 3 à 6.10⁻⁶M. Au-delà de ces concentrations, les effets toxiques de ce composé sont responsables d'une diminution des taux de postlarves mesurés.

La jacaranone est le dérivé méthylé de l'acide quinolacétique intermédiaire de la biotransformation de l'acide parahydroxyphényl pyruvique (ou parahydroxyphényl- acétique) en acide homogentisique. Ce dernier composé a été testé au cours des expériences présentées figures 6 et 7 qui ont été réalisées à 5 jours d'intervalle avec le même lot de larves. La première de ces expériences a été effectuée à la lumière ambiante qui a provoqué une photooxydation très rapide de l'acide homogentisique caractérisée par l'apparition d'une coloration brune du milieu d'élevage

notamment aux plus fortes concentrations (10⁻² et 10⁻³g.l⁻¹). La seconde a donc été réalisée à l'obscurité afin de retarder la dégradation de l'inducteur. Les deux expériences révèlent une activité inductrice significative de l'inducteur (respectivement F5/6 = 23,78 et F5/6 = 26,15). L'activité maximale était constatée à la concentration de 10⁻³g l⁻¹. Pour la seconde expérience l'activité maximale apparaît à des concentrations similaires (10⁻³ et 5.10⁻³g l⁻¹) mais il peut être observé que l'acide homogentisique est moins actif que la jacaranone (pas d'activité significative à 5.10⁻⁴g.l⁻¹), il est aussi moins toxique. La comparaison des résultats de ces deux expériences fait en outre apparaître la différence considérable des taux de métamorphose constatés : inférieurs à 1 % dans les témoins de la première expérience ils sont proches de 10 % pour la seconde, conséquence probable du maintien des larves en élevage pendant 5 jours supplémentaires.

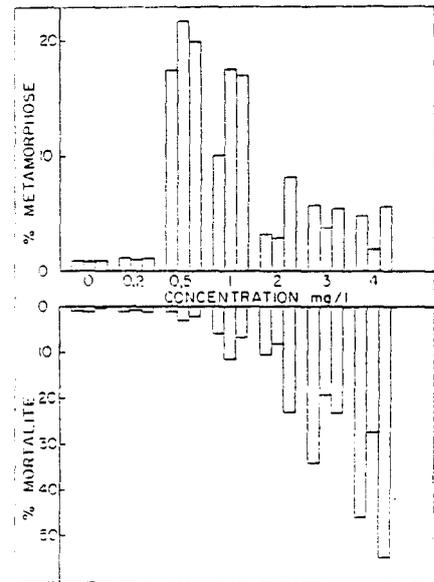


Fig. 5 : Recherche de la dose optimale de jacaranone de synthèse. Taux de métamorphose et mortalité évalués par comptage de 500 individus par lot.

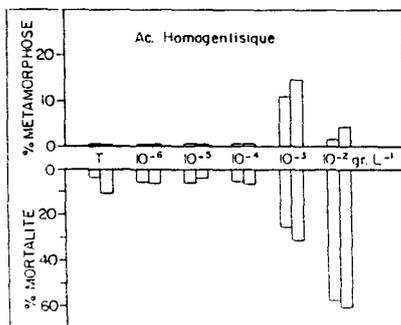


Fig. 6 : Première expérience d'induction de la métamorphose par l'acide homogentisique. Mesures effectuées sur 500 individus par lot. Eclairage ambiant.

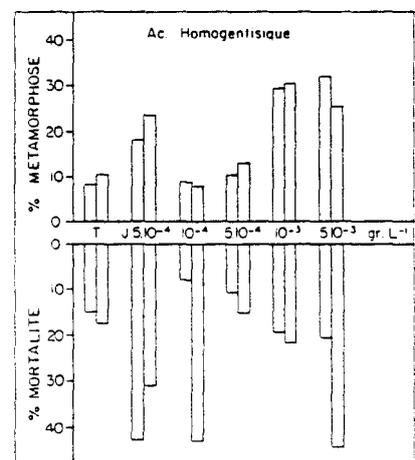


Fig. 7 : Deuxième expérience d'induction de la métamorphose par l'acide homogentisique. Protocole identique à Fig. 6 mais expérience réalisée à l'obscurité.

Les produits identifiés au cours de cette étude ont été comparés figure 8 aux composés d'origine biologique déjà identifiés dans la littérature comme inducteurs de la métamorphose : la L-DOPA, l'adrénaline, la noradrénaline. Ces composés présentant les mêmes risques de photooxydation que l'acide homogentisique, l'expérience s'est déroulée à l'obscurité, mais afin de vérifier si ce dernier composé perdait toutes ou une partie de ses propriétés inductrices, une solution mère (1 g/l) a été préparée 48 h avant le début de l'expérience et laissée à la lumière ambiante en présence d'air apporté par bullage. Au terme de l'essai l'analyse de variance révèle une hétérogénéité significative des moyennes ($F_{14/15} = 23,93$) due à l'activité de l'adrénaline (10^{-3} g.l^{-1}), de la jacaranone ($5 \cdot 10^{-4} \text{ g.l}^{-1}$) de la L-DOPA (10^{-3} g.l^{-1}) et de l'acide homogentisique présenté sous sa forme dégradée (10^{-3} g.l^{-1}). Le premier de ces composés a une activité significativement plus forte que les trois autres. Tous les autres lots expérimentaux ne diffèrent pas significativement du témoin à l'exception de celui qui a reçu 10^{-2} g.l^{-1} de noradrénaline pour lequel les faibles taux de métamorphose observés sont dus à des mortalités considérables (93 et 98 %). Dans tous les lots, à l'exception des témoins et de ceux ayant reçu soit de la jacaranone soit des doses faibles des composés testés (10^{-4} g.l^{-1}), une coloration rose (catécholamines) ou brune (acide homogentisique) a été constatée avant l'élimination des produits (48 h). Elle marque l'oxydation de ces composés dans l'eau mais si l'on compare les effets de l'acide homogentisique, présenté sous forme dégradée ou non, il apparaît que la dégradation de l'acide homogentisique augmente significativement l'activité de ce produit.

DISCUSSION

Parmi les causes susceptibles de déclencher la fixation et/ou la métamorphose des larves d'invertébrés marins, des agents physiques ou bactériens ont été invoqués (Ferguson-Wood, 1950 ; Crisp, 1974 ; Neuman, 1979 ; Weiner et Colwell, 1982 ; Kirchman et Mitchell, 1981 ; Kirchman et al., 1982). Dans les expériences qui viennent d'être décrites des facteurs physiques, tels que la texture des parois des récipients, ne peuvent être considérés comme responsable des écarts observés entre les lots témoins et les lots ayant reçu des extraits d'algues ou des composés purs. La méthode de préparation des extraits aqueux d'algues des premières expériences a par contre pu provoquer la prolifération de bactéries similaires à la LST décrite par Weiner et al. (1985), induisant la métamorphose mais l'utilisation ultérieure d'extraits hydroalcooliques contredit cette hypothèse, les solvants utilisés

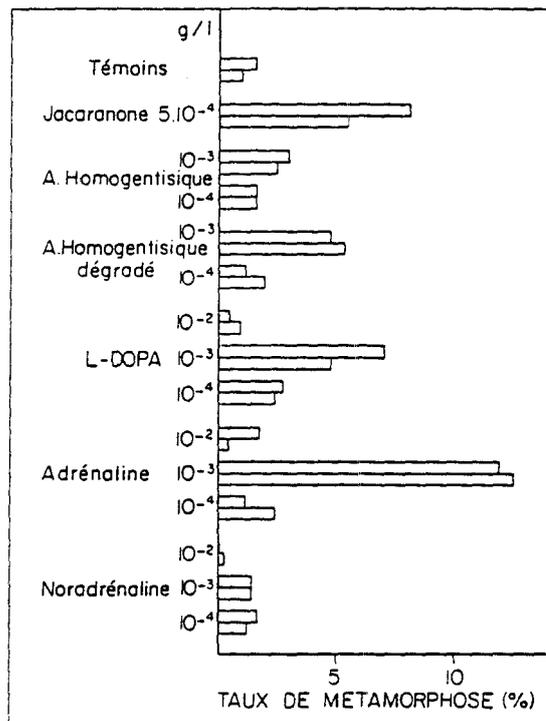


Fig. 8 : Comparaison de l'activité des catécholamines à celle de la jacaranone et de l'acide homogentisique. Expérience réalisée à l'obscurité.

empêchant tout développement bactérien. Enfin, les concentrations de jacaranone extraites de D. sanguinea qui représente environ 1/10 000 du poids sec de l'algue (Yvin, 1984) ne permettent pas de penser que cette substance provienne de bactéries vivant à la surface de l'algue. Il peut donc être admis que les larves de Pecten maximus ont réagi à des substances produites par D. sanguinea dont la jacaranone apparaît la plus active.

Tous les essais d'induction menés au cours de cette étude donnent des résultats significatifs mais les taux de métamorphose observés, en général relativement faibles, sont très variables d'une expérience à l'autre. La cause de cette variabilité doit être recherchée dans le critère de sélection des larves étudiées : le tamisage à 150 µm ne sélectionne les animaux que par leur taille et ne préjuge en aucun cas de la compétence des larves. Ce critère s'avère suffisant pour le transfert de l'écloserie vers la nurserie où les larves achèveront leur développement dans les tamis d'élevage avant de s'y fixer, mais dans le cas d'une métamorphose induite seules les larves compétentes au moment de l'induction pourront réagir à la stimulation (Morse et al., 1979b ; Chia, 1978). C'est ainsi que la comparaison des deux essais d'utilisation de l'acide homogentisique réalisés à 5 jours d'intervalle sur le même élevage montre une augmentation très sensible des taux de métamorphose obtenus dans les témoins et dans les tests. La prise en compte d'un critère morphologique tel que l'épaississement du bord externe de la coquille des larves au stade pédivéligère devrait permettre de mieux se rendre compte de l'efficacité de ces inductions. Cette modification des protocoles permettrait en outre de vérifier si la présence des inducteurs provoque un comportement de recherche d'un substrat de fixation analogue à celui décrit chez les huîtres Crassostrea virginica en présence de la bactérie LST ou par la L-DOPA (Weiner et Colwell, 1982 ; Coon et al., 1985). Ce comportement n'a pu être observé chez Pecten maximus en raison de la proportion relativement faible de larves compétentes, mais peut-être aussi d'une moins grande sensibilité de cette espèce aux signaux chimiques induisant la métamorphose. La coquille Saint Jacques ne paraît inféodée à aucun biotope précis ni associée à une espèce particulière malgré les recherches menées dans ce sens par Dare (1987). Elle réagit néanmoins positivement à toute une famille de composés dont le trait commun est qu'ils dérivent par deux voies métaboliques opposées de la tyrosine : d'un côté le groupe des catécholamines est représenté par la L-DOPA et l'adrénaline, de l'autre les produits de la dégradation de la tyrosine : l'acide parahydroxyphényl pyruvique et l'acide homogentisique. La jacaranone peut elle aussi être considérée comme faisant partie de ce second groupe. Il s'agit en effet du dérivé méthylé de l'acide quinolacétique intermédiaire hypothétique des deux précédents inducteurs (Ogura et al., 1977 ; Saito et al., 1975 a et b ; Lindblad et al., 1970 ; Jefford et Cadby, 1981), cette hypothèse est étayée par la découverte de l'acide quinolacétique dans les urines de malades souffrant de tyrosinémie (Niederwieser et al., 1977 ; Hocart et al., 1983).

Il faut donc concevoir que quels que soient les facteurs qui, dans la nature, déclenchent le processus de métamorphose, la coquille Saint Jacques dispose de récepteurs similaires à ceux des huîtres du genre Crassostrea. Ces récepteurs peuvent même être considérés comme très sensibles à la présence des inducteurs identifiés puisque les doses actives sont de $5 \cdot 10^{-4} \text{ g.l}^{-1}$ pour la jacaranone et 10^{-3} g.l^{-1} pour les autres inducteurs dont l'étude de la concentration d'activité optimale a été abordée. Les concentrations actives

exprimées en moles sont de 3 à 6 10^{-6} M pour la jacaranone et 6 à 7 10^{-6} pour les autres, soient des concentrations environ 50 fois inférieures à celles jugées optimales par Coon et al. (1985-1986) (10^{-4} M) ; elles sont du même ordre de grandeur que celles déterminées par Morse et al (1979a) pour l'induction par le GABA (10^{-6} M). Aussi faibles soient elles, ces concentrations ont cependant peu de chances de se retrouver dans la nature à plus de quelques millimètres de leur source (Crisp, 1974). Par ailleurs le rôle éventuel de l'adrénaline et de la noradrénaline chez les bivalves n'est pas actuellement connu, mais il est peu probable que ce composé soit directement impliqué dans les processus internes de déclenchement de la métamorphose. La rapidité avec laquelle les catécholamines provoquent la fixation (L-DOPA) chez les huîtres, plaide en faveur de l'hypothèse d'un mécanisme du type de celui décrit par Morse (1985) pour l'ormeau : les inducteurs identifiés chez les bivalves agiraient comme le GABA sur des chémorécepteurs stéréospécifiques dont ils miment le véritable substrat. Les composés actifs ne présentent cependant pas d'analogie structurale évidente qui permettrait de relier l'activité à la position relative de certaines fonctions chimiques comme cela a été constaté par Morse (1981) et Morse et Morse (1984) qui considèrent que l'activité du GABA et de l'acide delta amino valérique serait due à l'existence d'une fonction amine en gamma ou delta d'un carboxyle comme dans les phycoérythrine. Par contre l'oxydation très rapide de l'adrénaline, de la L-DOPA, et de l'acide homogentisique dans l'eau de mer permet d'envisager l'hypothèse que ces composés agiraient non pas sous leur forme originelle mais sous leur forme dégradée. Un certain nombre d'observations viennent à l'appui de cette idée : tout d'abord il a été montré que l'acide homogentisique dégradé se révélait plus actif que lorsqu'il est préparé extemporanément, ensuite un certain nombre de données de la littérature font état de l'activité de molécules où des dérivés de la tyrosine jouent un rôle majeur. Ainsi, Veitch et Hidu (1971) ont isolé de la coquille de C. virginica une thyroprotéine stimulant la fixation des larves de cette espèce tandis que la mélanine synthétisée par la bactérie LST (Weiner et al., 1985) est un polymère quinonique de la LST. Il a par ailleurs été montré que chez les huîtres, les balanes et les spirorbes, le caractère grégaire de la fixation est dû à l'identification par la larve des protéines de la coquille, de la carapace ou du tube de ses congénères (Crisp, 1965, 1967, 1974). Ces protéines résultent d'un tannage par des quinones dérivées de la L-DOPA suivant un processus semblable à celui qui consolide les byssus des moules (Lindner et Dooley, 1975).

Cette hypothèse s'accorde bien avec les informations fragmentaires disponibles sur la fixation de Pecten maximus dans la nature, la larve recherchant un substrat érigé proche du fond pourrait être stimulée par la présence des molécules impliquées dans le tannage protéique de la paroi d'animaux en croissance ou celles des groupements quinones des protéines tannés résultantes.

CONCLUSION

La coquille Saint-Jacques qui, dans la nature, n'apparaît pas clairement inféodée à un biotope précis se métamorphose en présence de plusieurs composés de faible poids moléculaire. Certains de ces composés sont déjà connus pour leur activité inductrice chez

les huîtres où cette relation spécifique entre la larve et son substrat de fixation existe. Il est raisonnable de penser que les récepteurs sur lesquels ces composés agissent sont présents à la fois chez Pecten maximus, chez les huîtres creuses mais aussi d'autres espèces de bivalves. Ces molécules dérivent de la tyrosine par deux voies métaboliques distinctes ne présentent pas d'analogies structurales évidentes mais s'oxydent sous forme de quinones à l'exception de la jacaranone qui est une cyclohexadiénone. Les quinones sont elles-mêmes impliquées dans la polymérisation de molécules inductrices de fort poids moléculaire citées dans la littérature. Les groupements quinoniques de ces molécules pourraient donc être la partie active commune à tous ces composés qui déclenchent la métamorphose des larves de bivalves.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AKASHIGE, S., SEKI, T., KAN-NO, H., et NOMURA, T., 1981. Effects of aminobutyric acid and certain neurotransmitters on the settlement and the metamorphosis of the larvae of Haliotis discus hannai Ino. Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab., 43 : 37-45.
- BAYNE, B.L., 1965. Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of Mytilus edulis (L.). Ophelia 2, 1-47.
- BRAND, A.R., PAUL, J.P., HOOGESTEGER, J.N., 1980. Spat settlement of the scallops Chlamys opercularis (L.) and Pecten maximus (L.) on artificial collectors. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 60, 379-390.
- BUESTEL, D., 1979. L'exploitation de la coquille Saint Jacques Patinopecten yessoensis (J.) au Japon : Possibilités d'application du modèle de développement japonais à l'espèce française Pecten maximus (L.). Actes de colloques du CNEOX 12, 15-32.
- BUESTEL, D., ARZEL, P., CORNILLET, P., DAO, J.C., 1977. La production de juvéniles de Coquilles Saint Jacques (Pecten maximus (L.)). Actes de colloques du CNEOX 4, 307-315.
- BUESTEL, D., COCHARD, J.C., DAO, J.C., GERARD, A., 1982. Production artificielle de naissain de coquilles Saint Jacques Pecten maximus (L): Premiers résultats en rade de Brest. Vie Marine 4, 24-28.
- BURKE, R.D., 1983. The induction of metamorphosis of marine invertebrate larvae : stimulus and response. Can. J. Zool., 61 : 1701-1719.
- CHIA, F.S., 1978. Perspectives : settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae. in Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larvae, F.S. Chia et M.E. Rice (eds) Elsevier NY : 283-286.
- COON, S.L., BONAR, D.B., WEINER, R.M., 1985. Induction of settlement and metamorphosis of the Pacific oyster, Crassostrea gigas (Thunberg), by L-DOPA and catecholamines. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 94, 211-221.

- COON, S.L., BONAR, D.B., WEINER, R.M., 1986. Chemical production of cultchless oyster spat using Epinephrine and Morepinephrine. *Aquaculture*, 58 : 255-262.
- CRISP, D.J., 1965. Surface chemistry, a factor in the settlement of marine invertebrate larvae. *Mar. Biol. Symp.* 5, Goteborg (1964), 51-61.
- CRISP, D.J., 1967. Chemical factors inducing settlement in Crassostrea virginica (Gmelin). *J. Anim. Geol.* 36 : 329-335.
- CRISP, D.J., 1974. Factors influencing the settlement of marine invertebrate larvae. in Chemoreception in Marine Organisms P.T. Grant and A.M. Mackie (eds). Academic Press, 177-265.
- DARE, P.J., 1987. Settlement of scallop, Pecten maximus (L) spat on natural substrates off South-West England : the hydroid connexion. 6th International Pectinid Workshop, 8 pp.
- EGGLESTON, D., 1962. Spat of the scallop (Pecten maximus (L)) from off Port-Erin, Isle of Man. Report. Marine Biological Station, Port Erin, 74, 29-32.
- FERGUSON-WOOD, E.J., 1950. Investigations on underwater fouling. I-The role of bacteria in the early stages of fouling. Aust. Journ. of Mar. and Freshw. Res. 1, 85-91.
- GRUFFYDD, Ll. D., BEAUMONT, A.R., 1970. Determination of the optimum concentration of eggs and spermatozoa for the production of normal larvae in Pecten maximus (Mollusca, Lamellibranchia). Helgoländer wiss. Meeresunters 20, 486-497.
- GRUFFYDD, Ll. D., BEAUMONT A.R., 1972. A method for rearing Pecten maximus larvae in the laboratory. Marine Biology 15, 350-355.
- HADFIELD, M.G., 1978. Metamorphosis in marine molluscan larvae : an analysis of stimulus and response. in: Settlement and Metamorphosis of marine invertebrate larvae. Ed. by Fu-Shiang Chia/Mary E. Rice Elsevier, 165-175.
- HADFIELD, M.G., 1984. Settlement requirements of molluscan larvae : new data on chemical and genetic roles. Aquaculture, 39, 283-298.
- HADFIELD, M.G., et SCHEUER D., 1985. Evidence for a soluble metamorphic inducer in Phestilla : Ecological, Chemical and Biological Data. *Bull. Mar. Sci.* 37(2) : 556-566.
- HOCART, C.H., HALPERN, B., HICK, L.A., WONG, C.O., HAMMOND, J.W., WILCKEN, B., 1983. Hawkinsinuria-Identification of Quinolacetic acid and Pyroglutamic acid during an acidotic phase. J. Chromatogr. 275, 237-243.
- JEFFORD, C.W., CADBY, P.A., 1981. Evaluation of models for the mechanism of action of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. Experientia 37, 1134-1137.

- KATO, T., KUMANIRENG, A.J., ICHINOSE, I., KITAHARA, Y., KAKINUMA, Y., NISHIHIRA, M., et KATO, M., 1975. Active components of Sargassum tortile effecting the settlement of swimming larvae of Coryne uchidai. Experientia 31(4) : 433-434.
- KIRCHMAN D., GRAHAM, S., REISH, D., MITCHELL, R., 1982. Bacteria induce settlement and metamorphosis of Janua (Dexiospira) brasiliensis Grube (Polychaeta : spirorbidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 56, 153-163.
- KIRCHMAN, D., MITCHELL, R., 1981. A biochemical mechanism for marine biofouling. Ocean., sept., 537-541.
- LINDBLAD, B., LINDSTEDT, G., LINDSTEDT, S., 1970. The mechanism of Enzymic formation of Homogentisate from p.-hydroxyphenyl pyruvate. J. Amer. Chem. Soc. 92, 25, 7446-7449.
- LINDNER, E., DOOLEY, C.A., 1975. Physical and chemical mechanisms of barnacle attachment. Proc. Third Int. Biodegradation Symposium. Sharpley et Kaplan (eds). Applied Science Publishers Ltd London : 465-494.
- LOOSANOFF, V.L., DAVIS, H.C., 1963. Rearing of bivalve molluscs. Advances in Marine Biology, 1, 2-136.
- MASON, J., 1958. The Breeding of the scallop, Pecten maximus (L) in Manx waters. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 37, 653-671.
- MINCHIN, D., 1980. Room for the scallop : bid to halt the decline of European landings. Fish Farmer 3, 5, 18-21.
- MINCHIN, D., 1981. The scallop Pecten maximus in Mulroy Bay. Fisheries Bulletin Dublin n° 1, 89 p.
- MORSE, A.N.C., MORSE, D.E., 1984. Recruitment and metamorphosis of Haliotis larvae induced by molecules uniquely available at the surfaces of crustose red algae. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 75, 191-215.
- MORSE, D.E., HOOKER, N., DUNCAN, H., JENSEN, L.I., 1979a. Aminobutyric acid, a neurotransmitter, induces planktonic abalone larvae to settle and begin metamorphosis. Science, 204, 407-410.
- MORSE, D.E., DUNCAN, H., HOOKER, N., BALOUN, A., YOUNG, G., 1980a. GABA induces Behavioral and Developmental Metamorphosis in planktonic Molluscan Larvae. Federation Proceedings, 39, 14, 3237-3241.

- MORSE, D.E., HOOKER, N., JENSEN, L.I., DUNCAN, H., 1979b. Induction of larval abalone settling and metamorphosis by aminobutyric acid and its congeners from congeners from crustose red algae. II-Applications to cultivation, seed-production and bioassays, principal causes of mortality and interference. Proc. World Mar. Soc., 10, 81-91.
- MORSE, D.E., TEGNER, M., DUNCAN, H., HOOKER, N., TREVELYAN, G., CAMERON, A., 1980b. Induction of settling and metamorphosis of planctonic molluscan (Haliotis) larvae. III-Signaling by metabolites of intact algae is dependant on contact. Chemical signals. Ed. by Dietland Müller-Schwarze and Robert M. Silverstein. Plenum Publishing Corporation, 67-86.
- MORSE, D.E., 1981. Biochemical and genetic control of critical physiological processes in Molluscan life cycles : basic mechanisms, water-quality requirements and sensitivities to pollutants. Biennial report 1979-1980, Univ. of California, La Jolla, 83-87.
- MORSE, D.E., 1984. Biochemical and genetic engineering for improved production of abalones and other valuable molluscs. Aquaculture, 39 : 263-282.
- MORSE, D.E., 1985. Neurotransmitter-mimetic induces of larval settlement and metamorphosis. Bulletin of Marine Science, 37 : 697-706.
- NEUMANN, R., 1979. Bacterial induction of settlement and metamorphosis in the planula larvae of Cassiopea andromeda (Cnidaria : Scyphozoa, Rhizostomeae). Mar. Ecol. Prog. Ser., 1, 21-28.
- NIEDERWIESER, A., MATASOVIC, A., TIPPETT, P., DANKS, D.M., 1977. A new sulfur aminoacid, named Hawkinsin, identified in a baby with transient tyrosinemia and her mother. Clinica chimica acta, 76: 345-356.
- NIELSEN, S.A., 1973. Effect of acetazolamide on larval settlement of Ostrea lutaria. The Veliger 16, 1, 66-67.
- OGURA, M., CORDELL, G.A., FARNSWORTH, N.R., 1976. Potential anticancer agents. III- Jacarone, G. Novel Phytoquinoid from Jacaranda caucana. Lloydia, 39, 4, 255-257.
- OGURA, M., CORDELL, G.A., FARNSWORTH, N.R., 1977. Potential anticancer agents. IV- Constituents of Jacaranda caucana Pittier (Bignoniaceae). Lloydia, 40, 2, 157-168.
- ROMAN, G., PEREZ, A., 1976. Cultivo de larvas de vieira, Pecten maximus (Linnaeus), en laboratorio. Bol. Inst. Esp. Ocean. 223, 17 pp.
- SAITO, I., CHUJO, Y., SHIMAZU, H., YAMANE, M., MATSUURA, T., CAHNMANN, H.J., 1975a. Non enzymic oxidation of p-hydroxyphenylpyruvic Acid with singlet oxygen to Homogentisic Acid. A model for the action of p-Hydroxyphenylpyruvate hydroxylase. J. Amer. Chem. Soc. 97:18, 5272-5277.

- SAITO, I., YAMANE, M., SHIMAZU, H., MATSUURA, T., CAHNMANN, H.J., 1975b. Biogenic type conversion of p-hydroxyphenylpyruvic acid into homogentisic acid. Tetrahedron letters n° 9, pp. 641-644.
- SIEGEL, A., KECKEIS, H., 1953. "Über eine Modifizierte Form der Reformatski Reaktion Monatsh. Chem. 84, 910.
- VEITCH, F.P., et HIDU, H., 1971. Gregarious setting in the american oyster Crassostrea virginica gmelin : I-Properties of a partially purified "setting factor" Cherapeake Science 12 (3) : 173-178.
- WEINER, R.M., et COLWELL, R.R., 1982. Induction of settlement and metamorphosis in Crassostrea virginica by a melanin-synthesizing bacterium. Technical Report Maryland Sea Grant Program. Publ. n° UM.SG.TS.82.05, 44 pp.
- WEINER, R.M., SEGALL, A.M., et COLWELL, R.R., 1985. Characterization of a marine bacterium associated with Crassostrea virginica (the Eastern Oyster). Appl. Environ. Microbiol. Janv. : C3-90.
- YVIN, J.C., 1984. Etude chimique et pharmacologique d'une Rhodophycée Delesseria sanguinea (Linne) Lamouroux. Thèse Doct. Ing. Univ. de Bretagne Occidentale, n° 16 B: 198 pp.
- YVIN, J.C., CHEVOLOT-MAGUEUR, A.M., CHEVOLOT, L., LALLEMAND, J.Y., POTIER, P., GUILHEM, J., 1982. Delesserine, a new metabolite of mixed biogenesis from the red marine Alga Delesseria sanguinea (Lamouroux). J. Amer. Chem. Soc., 104, 4497.
- YVIN, J.C., CHEVOLOT, L., CHEVOLOT-MAGUEUR, A.M., COCHARD, J.C., 1985. First isolation of Jacaranone from an alga Delesseria sanguinea: A metamorphosis inducer of Pecten larvae. J. Nat. Prod., 48, 814-16.