

Étude comparative du cycle de reproduction de la palourde *Ruditapes decussatus* en milieu naturel (sud Tunisie) et contrôlé (écloserie)

Leila HAMIDA¹, Mohamed-Nejib MEDHIOUBAND¹, Jean Claude COCHARD²,
Mohamed-Salah ROMDHANE³ et Marcel LE PENNEC⁴

(¹) Institut National des Sciences et Technologie de la Mer, centre de Monastir, 5000 route de Khniss, Tunisie.

Fax : 216 73 46 00 34, E-mail: hamida_2000@yahoo.fr

(²) Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation de la Mer - Centre de Brest, BP 70, 29280 Plouzané, France.

(³) Institut National Agronomique de Tunisie - Université de Carthage, 43 Av. Charles Nicolle 1082 Tunis, Tunisie.

(⁴) Institut Universitaire Européen de la Mer, Université de Bretagne Occidentale, Place Nicolas Copernic,
Technopole Brest-Iroise, 29280 Plouzané, France.

Résumé : L'objectif de cette étude est de décrire et de comparer la gamétogenèse chez *Ruditapes decussatus*, en milieu contrôlé et *in situ*, de définir les critères d'évaluation de la maturité de l'espèce et de mettre en évidence le rôle positif du conditionnement dans la réussite de la reproduction artificielle. Les géniteurs prélevés dans un site de grossissement dans le sud tunisien sont conditionnés au sein de l'écloserie expérimentale de Monastir. Les paramètres étudiés sont l'évolution de l'indice de condition et la distribution des fréquences du diamètre ovocytaire moyen. Les résultats obtenus montrent que le cycle sexuel est continu. En janvier et février, les individus débutent leur gamétogenèse. De mars à novembre-décembre, l'activité gonadique est importante. La période d'émission gamétique s'étale de juin à décembre avec un intervalle de temps irrégulier entre les émissions. En conditionnement d'hiver, les palourdes produisent des ovocytes matures à partir de mars et les émissions gamétiques commencent en avril. Le cycle est accéléré grâce à l'élévation de température et l'abondance de nourriture : les reproducteurs produisent alors des gamètes matures plus tôt dans l'année, en avance de deux mois par rapport au milieu naturel. En conditionnement d'été, l'évolution du cycle sexuel est la même qu'en milieu naturel et les périodes de maturation et d'émissions gamétiques coïncident parfaitement.

Abstract: A comparative study of the reproductive cycle of *Ruditapes decussatus* under natural (South of Tunisia) and controlled conditions (hatchery). The aim of this study was to describe and compare the gametogenic activity of *Ruditapes decussatus* *in situ* and in hatchery. Criteria of maturity were characterized and the positive role of conditioning in the success of artificial reproduction was underlined. Specimens sampled in the South of Tunisia were conditioned at the experimental station of Monastir (Tunisia). The parameters studied were the variation of the condition index and the frequency distribution of oocyte diameters. Results showed that the reproductive cycle was continuous *in situ*. Gametogenesis started in January and February. Gonadic activity increased from March to November-December. Spawning events occurred irregularly from June to December. In winter conditioning, mature oocytes were produced from March and spawning began in April. The increase in temperature and food abundance shortened the gametogenesis duration; ripe gametes were produced two months earlier compared to natural environment. In summer conditioning, the reproductive cycle was the same as that in the natural site, maturation and spawning occurred simultaneously.

Keywords: *Ruditapes decussatus*, Reproduction, Maturation, Diamètre ovocytaire, Indice de condition.

Reçu le 20 juin 2003 ; accepté après révision le 1^{er} octobre 2004.

Received 20 June 2003; accepted in revised form 1st October 2004.

Introduction

La palourde *Ruditapes decussatus* (L.), de la famille des Veneridae, est présente en Mer du Nord et dans le nord-est de l'Atlantique, depuis les côtes norvégiennes jusqu'aux Açores et aux côtes sénégalaises. Elle est commune dans les zones estuariennes et lagunaires de la majeure partie du bassin méditerranéen (Parache, 1982 ; Lubet, 1984). En Tunisie, elle est présente sur presque tout le littoral et surtout abondante dans le golfe de Gabès (Medhioub, 1983). *R. decussatus* y représente un enjeu économique important, tant au niveau de l'emploi que de la balance commerciale du pays *via* son exportation vers l'Europe.

La préservation de cette ressource nécessite des mesures de gestion des pêches et, en parallèle, son développement aquacole qui permettrait notamment le repeuplement du milieu à partir de juvéniles produits en éclosérie. Ceci implique un développement des techniques de production en éclosérie et une maîtrise de l'élevage sur le terrain.

Le conditionnement des reproducteurs est l'une des phases clés de la réussite de la production larvaire et la connaissance préalable du déroulement du cycle sexuel dans la nature est indispensable pour maîtriser cette étape. Plusieurs études sur le cycle de reproduction de *R. decussatus* en milieu naturel ont été réalisées dans différents pays dont la Tunisie (Zamouri-Langar, 1991 ; Trigui-El Menif et al., 1995), le Maroc (Shafee & Daouadi, 1991), la France (Gallois, 1977 ; Beninger & Lucas, 1984 ; Laruelle et al.,

1994 ; Laruelle, 1999), l'Espagne (Rodriguez-MoscOSO & Arnaiz, 1998), l'Irlande (Xie & Burnell, 1994), et l'Italie (Breber, 1980). En milieu contrôlé, la dynamique de la gamétogenèse des bivalves a également été contrôlée, notamment chez *Crassostrea gigas* (Lubet, 1976 ; Lubet & Mathieu, 1999 ; Lango-Reynoso et al., 2000 ; Chàvez-Villalba, 2001 ; Chàvez-Villalba et al., 2002a,b), mais rares sont les études de ce type qui concernent la palourde européenne *R. decussatus*. Mann (1979a) et Toba & Miyama (1991) ont donné quelques informations marginales sur le cycle de reproduction de *R. philippinarum* en milieu contrôlé, mais celles-ci ne sont pas reliées au milieu naturel. Cette liaison est pourtant essentielle à la compréhension de la gamétogenèse pendant le conditionnement.

L'objectif de cette étude est donc de décrire et de comparer le déroulement de la gamétogenèse chez les reproducteurs de *R. decussatus*, en milieu contrôlé et en milieu naturel, de définir les critères d'évaluation de leur maturité et de mettre en évidence le rôle positif joué par le conditionnement dans la réussite de la reproduction artificielle.

Matériels et méthodes

Le cycle de reproduction d'une population naturelle située à Oued Maltine (région de Sfax, sud tunisien) a été étudié pendant l'année 2001 (Fig. 1). Les prélèvements de 100 à 120 individus de 30 à 46 mm ont été mensuels de janvier à

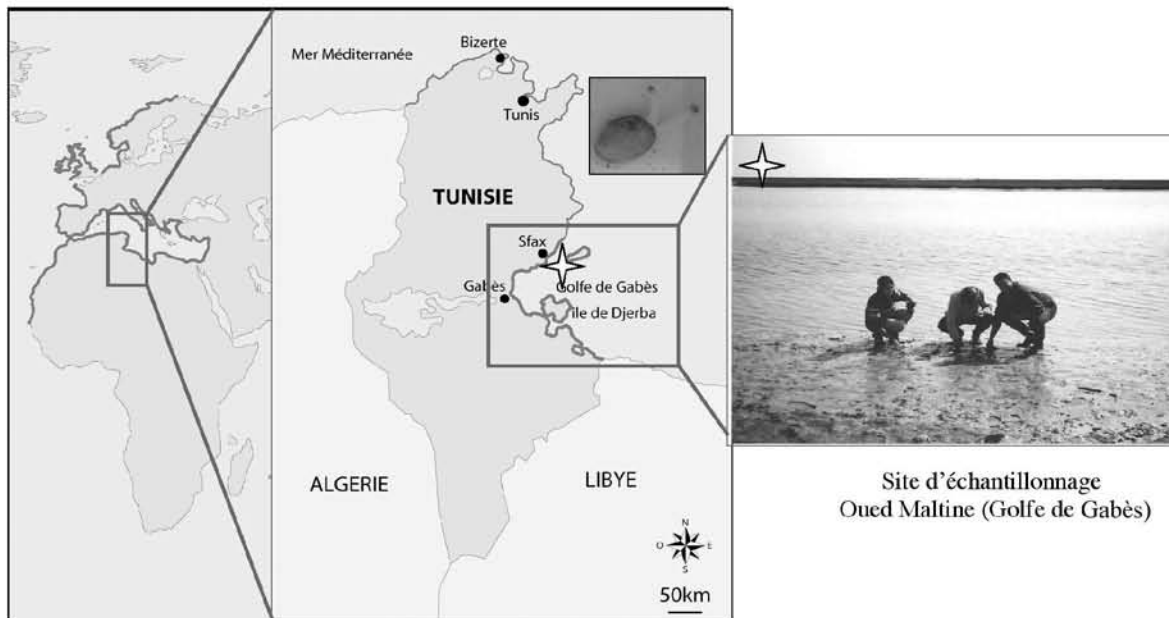


Figure 1. *Ruditapes decussatus*. Localisation du site d'échantillonnage (Oued Maltine, Golfe de Gabès, sud Tunisie)

Figure 1. *Ruditapes decussatus*. Location of sampling station (Oued Maltine, golf of Gabès, south of Tunisia).

mai et bimensuels de juin à décembre, suivis de deux prélèvements mensuels en janvier et février 2002.

Le conditionnement des géniteurs originaires de Oued Maltine (150 individus de 30 à 46 mm) a été effectué du 15 janvier au 15 mai 2001 et du 06 février au 07 mai 2002 pour le conditionnement d'hiver, du 10 juillet au 25 octobre 2001 pour le conditionnement d'été.

Le conditionnement a été effectué dans l'écloserie expérimentale de Monastir, dépendant de l'Institut National des Sciences et Technologie de la Mer (INSTM), suivant le protocole défini par Medhioub et al. (2000). En particulier, la température était maintenue à $21 \pm 1^\circ\text{C}$, la salinité à 30 ± 1 et l'éclairage continu. L'alimentation était constituée d'un mélange d'algues unicellulaires *Chaetoceros calcitrans* et *Isochrysis galbana*. La ration alimentaire était de 10^9 cellules par individu et par jour. Le milieu était renouvelé toutes les 24 heures.

Indice de condition

L'indice de condition (IC) choisi pour décrire le cycle de reproduction est celui proposé par Beninger (1984). Il permet de suivre les étapes de la gamétogenèse et l'émission des gamètes. L'IC correspond au rapport du poids sec des tissus sur le poids sec de la coquille multiplié par 100. Il a été mesuré pour 10 palourdes prises au hasard après passage à l'étuve à 60°C pendant 24h et pesées à 0,1g près.

Histologie

Dix palourdes ont été choisies d'une façon aléatoire. Après identification du sexe par frot-tis, la masse viscérale des femelles (3 à 6 femelles par échantillon) a été fixée dans du liquide de Bouin, déshydratée dans une série de bains d'alcool de concentration croissante puis dans le toluène. Les tissus ont été ensuite imprégnés et inclus dans la paraffine. Des coupes de $7 \mu\text{m}$ d'épaisseur ont été réalisées au microtome, puis montées sur lames avant coloration par l'hématoxyline-éosine (Gabe, 1968). La taille des ovocytes a été mesurée par analyse d'image. Les lames ont été placées sous un microscope équipé d'une caméra CCD. Les images ainsi obtenues ont été traitées à

l'aide du logiciel IMAQ VISION (National Instrument). De 100 à 150 ovocytes présentant un nucléole visible ont été sélectionnés par femelle. La mesure effectuée par l'analyseur correspond à la surface de la section ovocytaire (S) à partir de laquelle est déduit le diamètre ovocytaire équivalent (DO), par extrapolation à un disque de surface équivalente, suivant la formule : $DO = \sqrt{4 \times S/\pi}$. Le diamètre ovocytaire moyen (DOM) correspond alors à la moyenne des diamètres ovocytaires mesurés sur l'ensemble des femelles échantillonnées.

L'évaluation de l'état de maturité sexuelle des femelles est réalisé d'après la classification de Lango-Reynoso et al. (2000) qui décrit, chez *Crassostrea gigas*, quatre stades de développement en fonction du diamètre ovocytaire (DO) et des caractéristiques histologiques de la gonade : début de la gamétogenèse (DG), vitellogenèse (V), maturation (M) et dégénérescence (D). La taille des ovocytes en dégénérescence n'a pas été mesurée à cause de la non conformité de leur aspect (ovocytes déchirés ou éclatés). Cette phase a été détectée seulement pendant la période d'émission gamétique en milieu naturel ou à la suite d'émissions en milieu contrôlé, mais jamais au cours du conditionnement (Tableau 1). La classification en stades de développement est présentée dans le Tableau 1 et la Figure 5.

Analyses statistiques

Des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis, permettant de comparer un ensemble de K échantillons indépendants, ont été réalisés.

Tableau 1. *Ruditapes decussatus*. Classification des stades de maturation selon la mesure du diamètre ovocytaire.

Table 1. *Ruditapes decussatus*. Classification of maturation stages according to oocyte diameter.

Stade	Diamètres ovocytaires (μm)	Description histologique (Fig. 5)
DG Début de la gamétogenèse	< 15 μm	Les acini sont peu développés en nombre et en volume dans le tissu conjonctif.
V Vitellogenèse	15 - 40 μm	Les cellules restent adhérentes à la paroi des acini et quelques ovocytes sont libres dans la lumière des acini.
M Maturation	40 - 60 μm	Les acini de taille homogène sont complètement remplis par les ovocytes matures avec une taille homogène, un noyau visible et parfois un nucléole visible.
D Dégénérescence		Les acini perdent leur adhérence les uns aux autres. Les ovocytes sont parfois allongés ou déchirés, le développement des petits ovocytes est visible sur la paroi des acini.

Des histogrammes fréquence-taille des ovocytes ont été construits à l'aide du logiciel XSTAT pour suivre l'évolution temporelle des cohortes ovocytaires au cours de la période de reproduction. Les résultats sont présentés sous forme de courbes pour faciliter la représentation superposée des distributions ovocytaires des différentes femelles.

Résultats

Cycle de reproduction en milieu naturel

Indice de condition

Les fluctuations *in situ* de l'indice de condition de *R. decussatus* durant l'année 2001 (Fig. 2) indiquent que le cycle sexuel commence par une période d'augmentation significative de l'indice ($p < 0,05$) de mars à mai, puis chute en juin, le maximum de l'indice étant mesuré début août ($12,4 \pm 1,4$). A partir de juin, des diminutions importantes de l'indice sont observées, notamment en juin, d'août à septembre, en octobre et en décembre.

Distribution de fréquence des diamètres ovocytaires

Sur la Figure 3 sont représentées les distributions de fréquences des diamètres ovocytaires de *R. decussatus* *in situ* pendant l'année 2001. Chaque courbe correspond à la distribution de la fréquence des diamètres ovocytaires d'une femelle. En janvier, la distribution de taille des ovocytes des palourdes présente deux modes correspondant, l'un à un diamètre moyen inférieur à $10 \mu\text{m}$ et l'autre à un diamètre moyen supérieur à $40 \mu\text{m}$. Les ovocytes de petite taille grossissent durant cette période pour atteindre une taille voisine de $30 \mu\text{m}$ en avril ; ils continuent leur croissance jusqu'en juillet où la plupart des femelles sont au même stade de maturation avec des diamètres ovocytaires moyens se situent entre 40 et $50 \mu\text{m}$. En août, un étalement des modes vers des diamètres plus faibles est constaté. En octobre, comme en août, la population des femelles est composée d'individus dont certains contiennent des ovocytes en vitellogenèse et d'autres des ovocytes matures. A partir de novembre, un retour des modes vers des diamètres plus importants est alors constaté. En décembre, comme cela était le cas en juillet, toutes les femelles semblent être au même stade.

Evolution du diamètre ovocyttaire moyen

La mesure du diamètre ovocyttaire moyen (DOM) de l'année 2001 confirme les résultats obtenus par l'étude de l'évolution de l'indice de condition (Fig. 2). Deux augmentations significatives du diamètre ovocyttaire ($p < 0,001$) se produisent de mars à juin (25 à $41 \mu\text{m}$) et de novembre à décembre. Des diminutions importantes de diamètre ovocyttaire sont constatées de juin à juillet, de juillet à août et de décembre 2001 à janvier 2002. Les diminutions les plus

marquées sont en décembre, où le diamètre ovocyttaire chute de $45,0 \pm 1,5 \mu\text{m}$ à $31,0 \pm 6,1 \mu\text{m}$. Ceci est à comparer à juillet où le diamètre passe de $41,9 \pm 2,4 \mu\text{m}$ à $34,8 \pm 6,7 \mu\text{m}$.

Evolution des stades reproductifs

L'évolution des stades reproductifs chez les femelles de *R. decussatus* dans le milieu naturel est représentée sur la Fig. 4.

L'analyse des coupes histologiques permet de répartir les ovocytes issus des animaux échantillonnés dans les quatre stades de maturité. Dans le milieu naturel, les ovocytes au stade DG disparaissent en juin et réapparaissent en décembre pour le nouveau cycle de gamétogenèse. Ceux en vitellogenèse sont majoritaires pendant les premiers mois de l'année, puis diminuent vers la fin. Les ovocytes matures sont majoritaires pendant la période allant de juin à décembre.

Cycle de reproduction en milieu contrôlé

Indice de condition

L'indice de condition a une évolution rapide en milieu contrôlé en hiver 2001 et 2002 (Fig. 6A). Une augmentation significative ($p < 0,001$) des valeurs est observée dès la deuxième semaine de conditionnement durant les deux années. En 2001, un palier est observé après 3 mois, l'IC étant alors de $13,6 \pm 2,8$. En 2002, un optimum de $13,5 \pm 1,8$ est atteint à partir d'avril.

En conditionnement d'été, les fluctuations de l'indice de condition suivent la même évolution qu'en milieu naturel (Fig. 6B). Les valeurs sont assez élevées chez les palourdes avant le conditionnement ($8,9 \pm 2,1$ en 2001) et une baisse significative ($p = 0,007$) de l'indice est observée dès septembre, après 6 semaines de conditionnement.

Distribution des fréquences des diamètres ovocytaires

Dans les résultats qui suivent nous avons choisi de ne considérer que ceux de l'hiver 2002 et l'été 2001 pour une meilleure compréhension.

Les animaux conditionnés en hiver 2002 sont capables de produire un pourcentage important (40%) d'ovocytes en vitellogenèse dès février et des ovocytes matures en mars (Fig. 7A). A partir de cette période, les reproducteurs répondent positivement, par émission des gamètes, en réponse aux chocs thermiques subis.

Les gonades des palourdes conditionnées en été 2001 contiennent à leur arrivée en éclosion (en juillet) des ovocytes matures (Fig. 7B). La distribution des fréquences ovocytaires en juillet et août correspond parfaitement à celle du milieu naturel : toutes les femelles présentent des ovocytes matures en juillet. En août, un étalement des modes vers des diamètres plus faibles est constaté, les palourdes émettant les ovocytes matures et gardant ceux en cours de vitellogenèse.

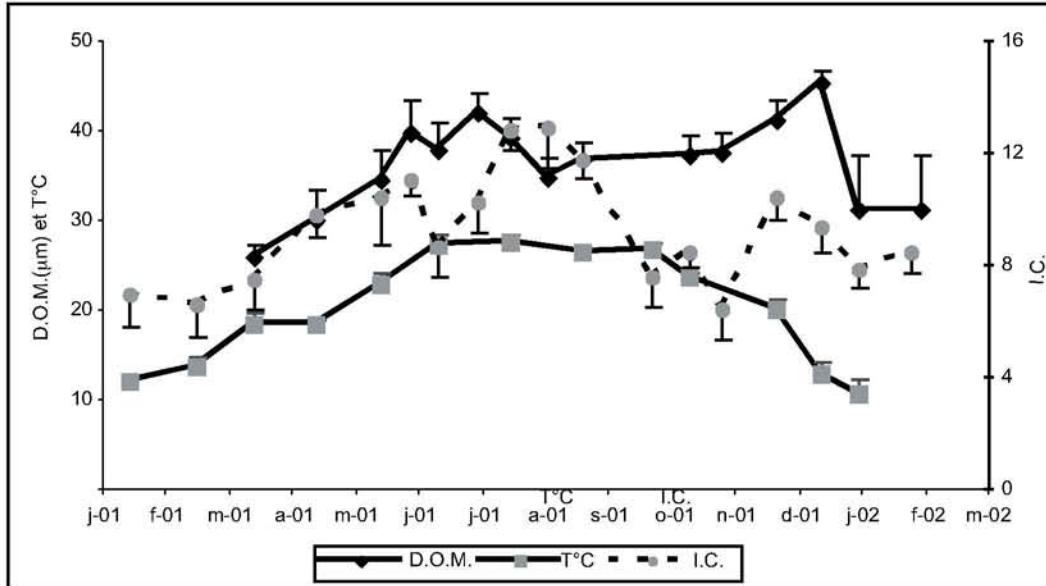


Figure 2. *Ruditapes decussatus*. Evolution *in situ* de l'indice de condition (IC), du diamètre ovocytaire moyen (DOM) et de la température (T°C). (Moyenne +/- intervalle de confiance à 95%) (+) pour le DOM et (-) pour l'IC.

Figure 2. *Ruditapes decussatus*. *In situ* evolution of condition index (IC), oocyte mean diameter (DOM) and temperature (T°C). (Mean +/- 95% confidence interval). (+) for DOM and (-) for IC.

Evolution du diamètre ovocytaire moyen

L'évolution du diamètre ovocytaire moyen des palourdes conditionnées en hiver 2002 (Fig. 6A) est corrélée positivement à celle de l'indice de condition ($r = 0,805$, $n = 7$, $p < 0,05$). Le diamètre ovocytaire augmente significativement au cours du temps ; la valeur la plus élevée est enregistrée après 3 mois de conditionnement, période où les reproducteurs sont en majorité matures.

Au cours du conditionnement estival (Fig. 6B), la baisse des valeurs des diamètres ovocytaires moyens au cours des premières semaines de conditionnement est significative ($p < 0,001$). Les géniteurs sont en maturation avancée et émettent leurs produits génitaux à la suite de n'importe quelle variation des paramètres environnementaux.

Evolution des stades reproductifs

L'évolution des stades reproductifs chez les femelles de *R. decussatus* en conditionnement d'hiver 2002 et d'été 2001 est représentée sur la Figure 8. Pour le conditionnement d'hiver 2002 (Fig. 8A), les ovocytes au stade DG disparaissent en mars, laissant la place à des ovocytes en vitellogenèse qui représentent 70% des cellules sexuelles en février. Les ovocytes matures représentent 80% dès la fin mars.

Une absence d'ovocytes en début de gamétogenèse est observée chez les palourdes conditionnées en été 2001

(Fig. 8B). Les ovocytes matures représentent 70% avant l'arrivée en éclosion. Après 5 semaines de conditionnement, le pourcentage des ovocytes matures est à son maximum (100%), période où les reproducteurs répondent positivement, par émission des gamètes, aux chocs thermiques subis.

Discussion

Afin de répondre aux objectifs qui consistent à décrire le cycle sexuel de *R. decussatus* en milieu naturel et en milieu contrôlé, à définir les critères d'évaluation de leur maturité et à évaluer l'apport du conditionnement dans la réussite de la reproduction artificielle, nous avons utilisé deux approches : qualitative par analyse histologique et semi-quantitative par suivi d'un indice de condition et analyse d'image. Il s'agit d'approches complémentaires et indispensables dont les résultats, plus ou moins détaillés suivant la méthode, sont convergents.

Cycle naturel

Selon nos résultats, le cycle sexuel de *R. decussatus* en Tunisie ne présente pas de fort ralentissement au cours de l'année, la gonade est tout le temps en activité même si cette activité est plus faible pendant des périodes critiques

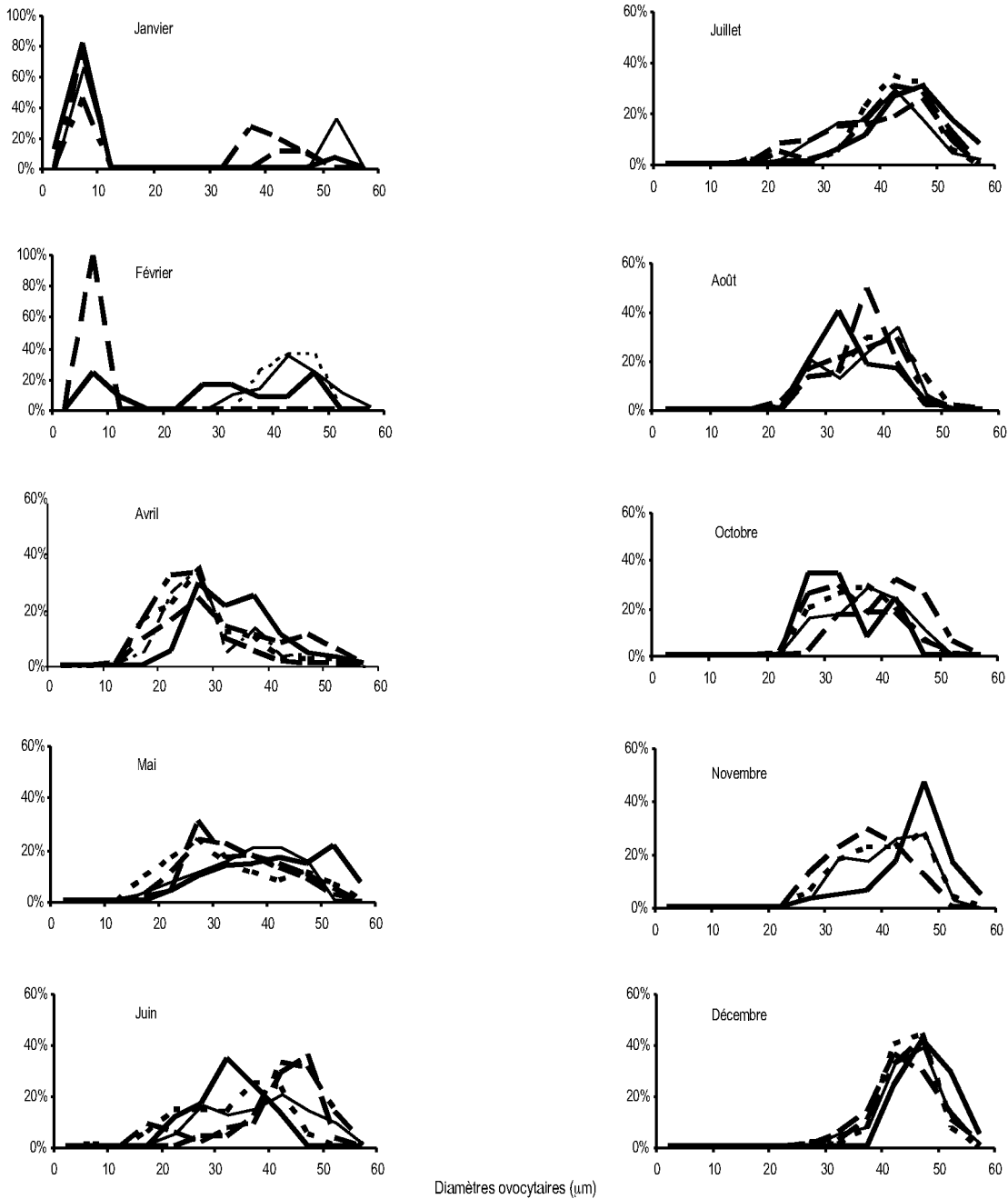


Figure 3. *Ruditapes decussatus*. Variation temporelle *in situ* des diamètres ovocytaires.
Figure 3. *Ruditapes decussatus*. *In situ* temporal variation of oocyte diameters.

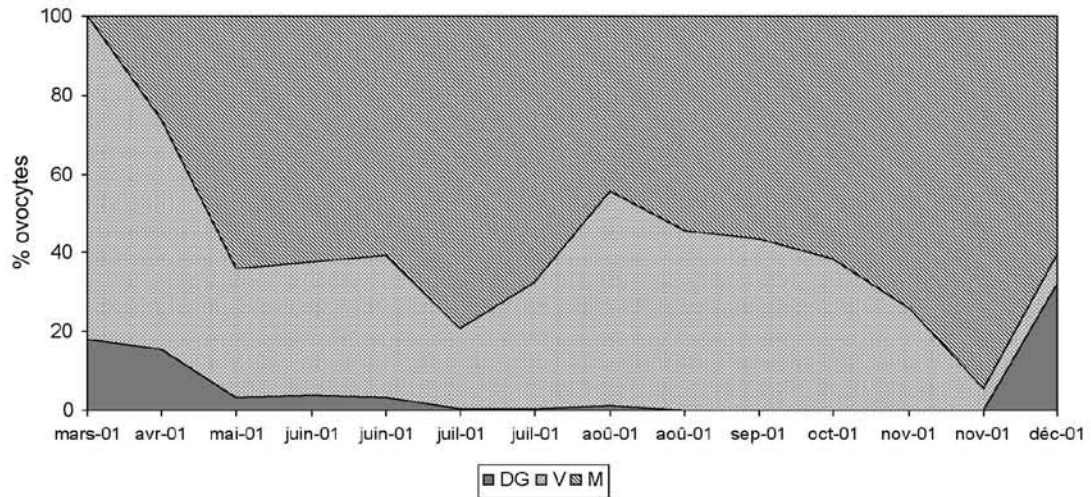


Figure 4. *Ruditapes decussatus*. Evolution des stades de reproduction chez les femelles en milieu naturel. DG : début de gamétogénèse, V : vitellogénèse, M : maturation.

Figure 4. *Ruditapes decussatus*. *In situ* annual variation of reproductive stages of females. DG : early gametogenesis, V : vitellogenesis, M : maturation.

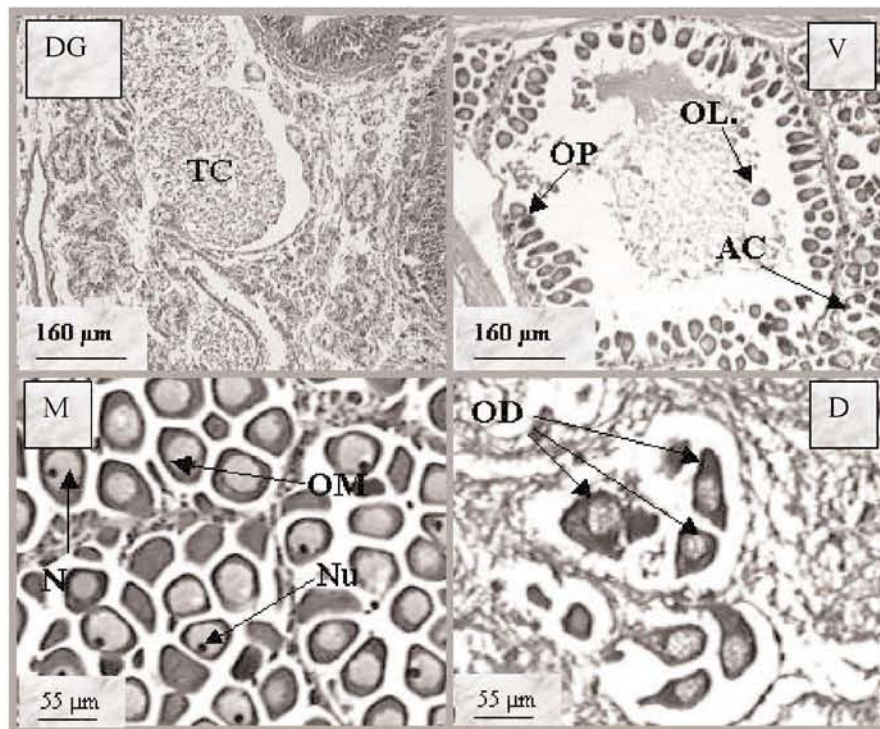


Figure 5. *Ruditapes decussatus*. Stades de maturation gonadique. DG : début de gamétogénèse, V : vitellogénèse, M : maturation, D : dégénérescence. AC : acini, N : noyau, Nu : nucléole, OD : ovocyte dégénéré, OL : ovocyte libre, OM : ovocyte mature, OP : ovocyte pédonculé, TC : tissu conjonctif.

Figure 5. *Ruditapes decussatus*. Gonadic stages. DG: early gametogenesis, V: vitellogenesis, M: maturation, D: degenerating, AC: acini, N: nucleus, Nu: nucleolus, OD: degenerating oocyte, OL: free oocyte, OM: mature oocyte, OP: developing oocyte, TC: connective tissue.

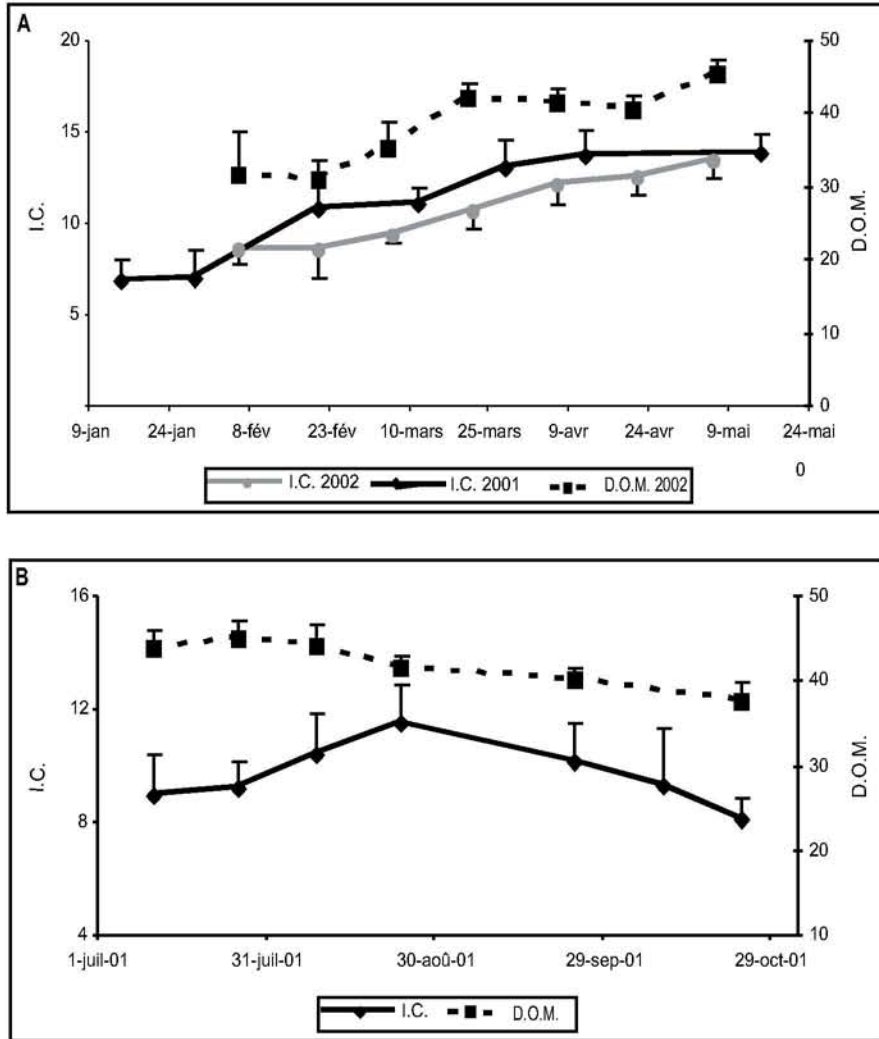


Figure 6. *Ruditapes decussatus*. Variation de l'indice de condition (IC) en conditionnement d'hiver 2001 et 2002 et du diamètre ovocytaire moyen (DOM) en 2002 (A) et évolution comparée de l'indice de condition (IC) et du diamètre ovocytaire moyen (DOM) en conditionnement d'été 2001 (B) (Moyenne +/- intervalle de confiance à 95%).

Figure 6. *Ruditapes decussatus*. Variation of condition index (IC) in winter conditioning in 2001 and 2002 and of oocyte diameters (DOM) in winter 2002 (A) and comparative variation of condition index (IC) and oocyte mean diameter (DOM) in summer conditioning in 2001 (B) (Mean +/- 95% confidence interval).

comme en janvier et février où l'animal est en début de gamétogenèse. Dès mars-avril et jusqu'en novembre-décembre, l'activité gonadique est importante (Fig. 2), vraisemblablement en raison de l'élévation de température de l'eau qui varie entre 12 et 28°C dans la zone d'étude et à l'abondance trophique procurée par les efflorescences phytoplanctoniques. On note trois périodes d'émissions gamétiques principales : la première commence début juin, la deuxième début juillet pour s'achever en octobre et la troisième en décembre (Fig. 2). D'une façon générale, il s'agit d'une seule période d'émission gamétique s'étalant

de juin à décembre avec un intervalle de temps irrégulier entre les émissions. L'étude du cycle de reproduction par l'analyse des cohortes ovocytaires (Fig. 3) confirme et renforce les résultats précédents. La prolifération des ovocytes au stade de début de gamétogenèse ($DOM < 15 \mu m$) commence en janvier et se poursuit jusqu'en avril-mai, et la croissance ovocytaire se déroule jusqu'en juin-juillet ($15 \mu m < DOM < 40 \mu m$). A cette période, les palourdes atteignent le stade de maturité ($40 \mu m < DOM < 60 \mu m$). Les émissions gamétiques se produisent jusqu'en décembre. Cependant, à partir d'août, on note la présence simul-

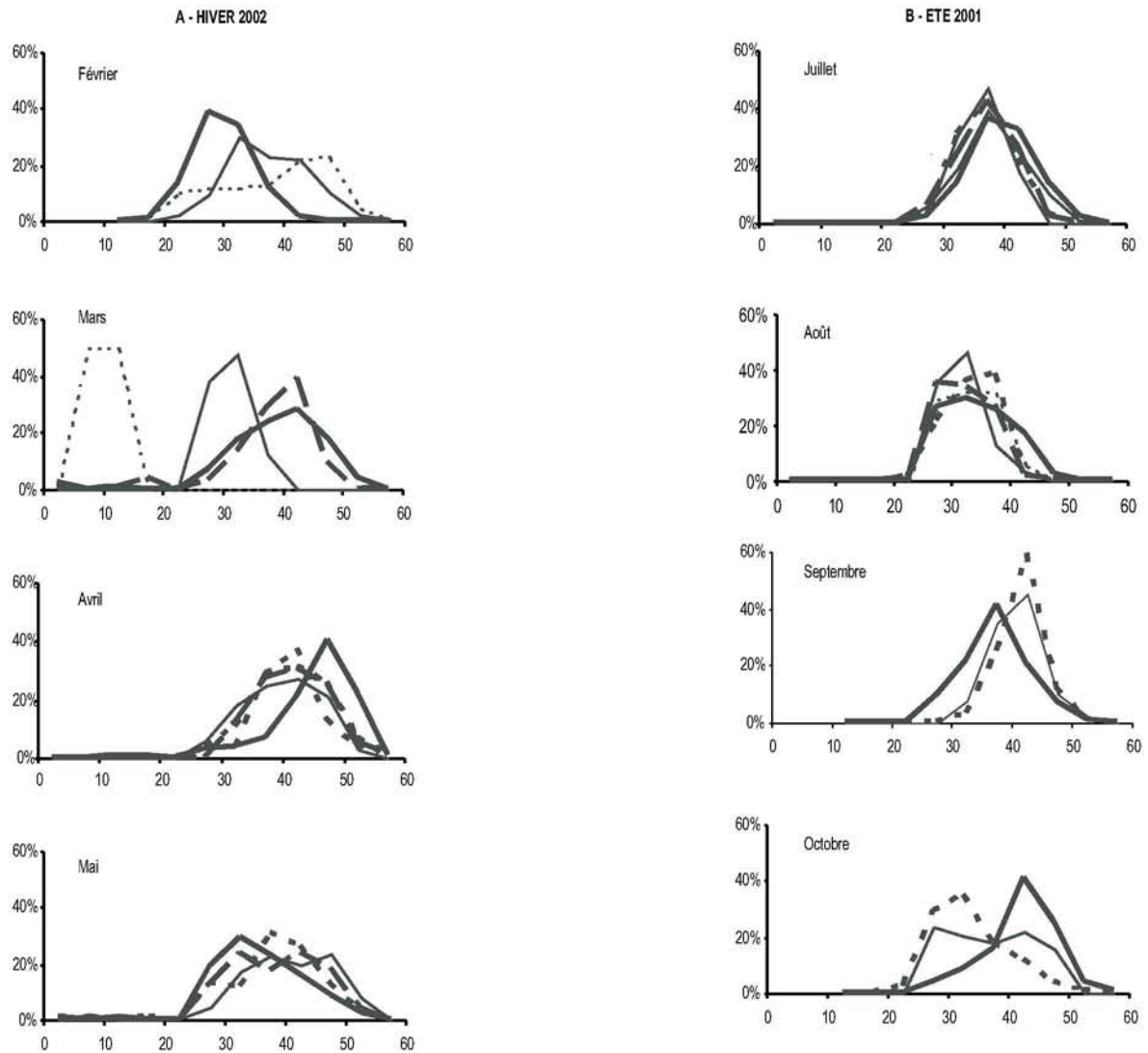


Figure 7. *Ruditapes decussatus* Variation temporelle des diamètres ovocytaires en conditionnement d'hiver (A) et en conditionnement d'été (B).

Figure 7. *Ruditapes decussatus*. Temporal variation of oocyte diameters in winter conditioning (A) and in summer conditioning (B).

tanée d'ovocytes en vitellogenèse et matures. Sachant qu'en juillet la quasi-totalité des femelles sont prêtes à émettre leurs gamètes, ceci indique que les émissions gamétiques sont partielles pendant le mois de juillet et qu'une nouvelle génération de cellules sexuelles est en évolution. On peut penser que les 100% d'ovocytes matures de décembre sont les jeunes générations d'ovocytes d'août qui sont arrivées à maturité après trois à quatre mois ou, plus vraisemblablement, vu les hautes températures (eau à 28°C), que les géniteurs émettent leurs gamètes matures à chaque occasion favorable et renouvellent leurs stocks dans

un intervalle de temps réduit, de l'ordre de deux à trois semaines, comme l'a montré Calvez (2003) pour *R. philippinarum* dont le golfe du Morbihan. Selon Lubet (1984), au cours de la période hivernale de repos sexuel, il se produit des émissions gamétiques dues au développement de quelques cellules sexuelles dans quelques acini dispersés au sein d'un tissu de réserve. Dans notre étude, malgré la présence d'ovocytes matures en novembre-décembre et janvier-février, aucune émission gamétique n'a été décelée avant le mois de juin.

Trigui-El Ménif et al. (1995) considèrent qu'en dépit de

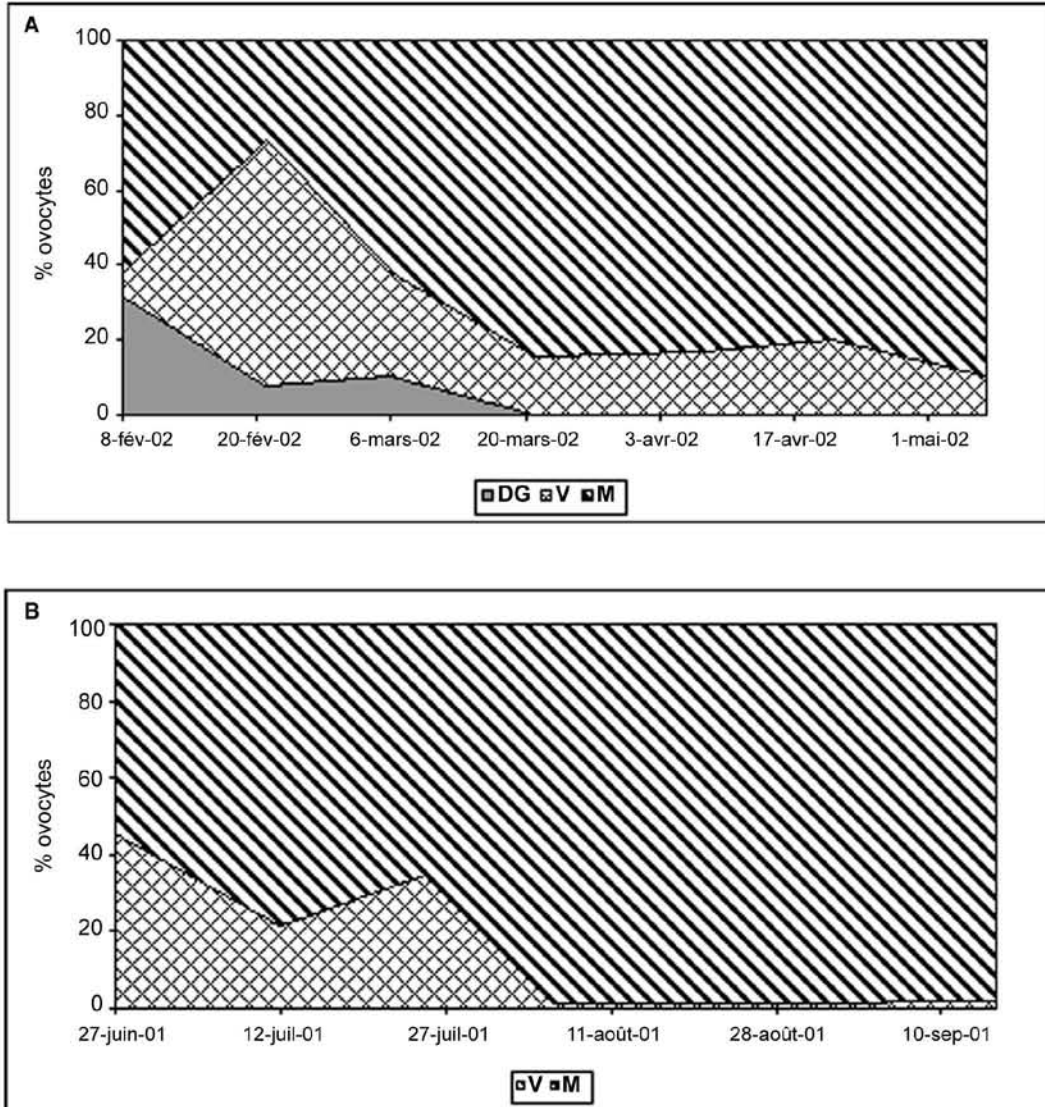


Figure 8. *Ruditapes decussatus*. Évolution des stades de reproduction chez les femelles en conditionnement d'hiver 2002 (A) et en conditionnement d'été 2001 (B). DG : début de gamétogenèse, V : vitellogenèse, M : maturation.

Figure 8. *Ruditapes decussatus*. Annual variation of reproductive stages of females in winter conditioning in 2002 (A) and in summer conditioning in 2001 (B). DG: early gametogenesis, V: vitellogenesis, M: maturation.

l'extension de son aire de répartition et de ses divers habitats, le cycle sexuel de *R. decussatus* ne présente pas de grandes différences d'une région à l'autre. D'après Lubet (1984), la durée du cycle semble être plus longue dans les régions méridionales comme la Tunisie (Zamouri-Langar, 1991) ou le Maroc (Shafee & Daouadi, 1991), où elle couvrirait pratiquement toute l'année. Nos résultats confirment cette observation.

Dans la distribution des cohortes ovocytaires chez *R. decussatus*, observées *in situ* (Fig. 3), il semble y avoir une synchronisation de la gamétogenèse entre les femelles quelle que soit la période d'étude. Ces résultats diffèrent de ceux de Trigui-El Menif et al. (1995) dans le site de Gargour (Golfe de Gabès) qui ont mis en évidence que la gamétogenèse se déroule d'une façon asynchrone pour les populations de *R. decussatus* notamment en fin d'hiver.

En raison de la période étalée des émissions gamétiques observée dans la présente étude, une question s'impose sur la période de ponte naturelle la plus favorable pour le recrutement. Lubet (1984) considère que, dans le cas de la Tunisie, la première émission printanière semble être la plus importante pour le recrutement puisqu'elle coïncide avec les efflorescences phytoplanctoniques de la saison. Dans notre étude, aucune émission gamétique avant le mois de juin n'a été décelée et la meilleure période de ponte pourrait être décembre puisqu'elle serait à l'origine des larves dont la vie pélagique coïncidera avec les efflorescences phytoplanctoniques printanières de l'année suivante. Les émissions gamétiques de juin, juillet et août se déroulent à des températures très élevées de l'ordre de 28° (Fig. 2), difficilement supportables par les larves. Pourtant, Trigui-El Menif et al. (1995) suggèrent que les émissions gamétiques de juin-juillet sont les meilleures, car elles permettent au naissain d'atteindre une taille suffisante pour supporter les mauvaises conditions environnementales de fin d'année.

Les émissions gamétiques observées lors de cette étude sont toutes partielles. Ainsi, après la ponte, il existe toujours un certain nombre d'ovocytes qui n'ont pas été émis et qui vont, soit constituer la nouvelle vague d'ovocytes qui seront libérés (cas d'août-décembre, Fig 3), soit s'atrésier et procurer des métabolites pour le développement de la nouvelle cohorte ovocytaire (Beninger, 1984; Morvan & Ansell, 1988 ; Rodriguez-Moscoso & Arnaiz, 1998)

La température semble être le facteur clé qui contrôle le déroulement de la gamétogenèse de la palourde. Ceci a été montré par plusieurs auteurs pour diverses espèces de bivalves (Loosanoff & Davis, 1963 ; Sastry, 1968 ; Mann, 1979b) dont *Ruditapes philippinarum* (Mann, 1979a). En effet, les températures moyennes enregistrées au cours de l'échantillonnage dans la zone d'étude s'échelonnent entre $12 \pm 0,5^\circ\text{C}$ en janvier et $27,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ en juillet, ce qui permet un déroulement de la gamétogenèse pendant une grande partie de l'année.

Reproduction contrôlée

Le suivi du cycle reproducteur de *R. decussatus* conditionnées durant l'hiver montre l'apport positif du conditionnement sur le déroulement de la gamétogenèse. L'obtention d'ovocytes matures est possible à partir du mois de mars. A cette période, la gonade est au stade DG, mais une forte proportion d'ovocytes (60%, Fig. 8) est déjà mature. Les émissions gamétiques commencent à partir d'avril en conditionnement, alors qu'elles ont lieu en juin en milieu naturel. En conditionnement hivernal, les émissions gamétiques sont partielles, la gonade renferme au moment des émissions gamétiques des ovocytes aux stades DG, V et M. Au début du conditionnement, il existe dans la gonade des ovocytes résiduels, mais ceci n'a ni empêché ni retardé la

reprise de la gamétogenèse, contrairement à ce qui a été observé chez *Crassostrea virginica* où la reprise n'est possible que lorsque les derniers ovocytes ont disparu (Dupuy et al., 1977). Grâce à l'élévation de température et la présence abondante de nourriture liée au conditionnement ; les femelles produisent des gamètes matures en un laps de temps de 4 semaines, en avance de trois mois par rapport au milieu naturel. Zine et al. (1998) ont obtenu des résultats similaires pour le conditionnement de *R. philippinarum* mais, dans ce cas, quatre à cinq semaines sont nécessaires pour atteindre le stade de maturité. Chàvez-Villalba et al. (2002a) obtiennent des résultats comparables pour *Crassostrea gigas*.

Les résultats relatifs au conditionnement d'été montrent qu'il n'existe aucune différence dans la distribution des modes ovocytaires, l'évolution du diamètre ovocytaire moyen et l'indice de condition (Fig. 6B), entre milieu contrôlé et milieu naturel. L'évolution du cycle sexuel est la même dans les deux cas de figure, les périodes d'émissions gamétiques coïncident parfaitement (Fig. 7B). Le conditionnement d'été n'apporte donc aucun avantage par rapport à l'utilisation d'animaux issus directement du milieu naturel pour la production de gamètes.

Ainsi, cette étude nous a permis de fournir des résultats essentiels pour la maîtrise du conditionnement de la palourde *R. decussatus* permettant aux écologistes d'évaluer l'état de maturité des géniteurs, de concentrer leurs efforts sur le conditionnement uniquement à certaines périodes de l'année allant de février à mai, ce qui leur permet de gagner autant en temps qu'en coût de production.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme Aquaculture 2001 entre l'Institut National des Sciences et Technologie de la Mer, Centre de Monastir, Tunisie et l'Institut Français pour la Recherche et l'exploitation de la Mer, Centre de Brest, France. Les auteurs remercient les équipes des écloséries expérimentales de Monastir (Tunisie) et d'Argenton (France) qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Références

- Beninger P.G. 1984.** Seasonal variations of the major lipid classes in relation to the reproductive activity of two species of clams raised in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys, 1863) and *T. philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **79**: 79-90.
- 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). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **79**: 19-37.
- Breber P. 1980.** Annual gonadal cycle in the carpet-shell clam *Venerupis decussata* in Venice lagoon, Italy. *Proceedings of the National Shellfish Association*, **70**: 31-35.
- Calvez I. 2003.** Approche de la variabilité spatiale des stades larvaires et post-larvaires d'une population de la palourde japonaise, *Ruditapes philippinarum*. *Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale*. 218 pp.
- Chávez-Villalba J.E. 2001.** Conditionnement expérimental de l'huître *Crassostrea gigas*. *Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale*. 186 pp.
- Chávez-Villalba J., Barret J., Mingant C., Cochard J.C. & Le Pennee M. 2002a.** Autumn conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: a new approach. *Aquaculture*, **210**: 171-186.
- Chávez-Villalba J., Pommier J., Andriamizeza J., Pouvreau S., Barret J., Cochard J.C. & Le Pennee M. 2002b.** Broodstock conditioning of the oyster *Crassostrea gigas*: origin and temperature effect. *Aquaculture*, **214**: 115-130.
- Dupuy J.L., Windsor N.T. & Sutton C.E. 1977.** Manual for design and operation of an oyster seed hatchery. *Special Report. Applied Science Ocean Engineering. Virginia Institute of Marine Science, Gloucester Point*.
- Gabe M. 1968.** Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris. 113 pp.
- Gallois D. 1977.** Sur la reproduction des palourdes, *Venerupis decussata* (Linné) et des clovisses, *Venerupis aurea* (Gmelin) de l'étang de Thau (Hérault). *Vie et Milieu*, **27**: 233-254.
- Lango-Reynoso F., Chávez-Villalba J., Cochard J.C. & Le Pennee M. 2000.** Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, **190**: 183-199.
- Laruelle F., Guillou J. & Paulet Y.M. 1994.** Reproductive pattern of the clams, *Ruditapes decussatus* and *R. philippinarum* on intertidal flats in Brittany. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **74**: 351-366.
- Laruelle F. 1999.** Phénologie et déterminisme de la reproduction chez *Ruditapes decussatus* (L.) et *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve) en Bretagne. *Thèse de doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale*. 216 pp.
- Loosanoff V. & Davis H.C. 1963.** Rearing of bivalve mollusks. *Advances in Marine Biology*, **1**: 1-136.
- Lubet P. 1976.** Ecophysiologie de la reproduction chez les mollusques lamellibranches. *Haliotis*, **7**: 49-55.
- Lubet P.E. 1984.** Biologie de la reproduction de mollusques bivalves d'importance commerciale en Méditerranée. *Haliotis*, **14**: 49-68.
- Lubet P.E. & Mathieu M. 1999.** Applications à la conchyliculture des récentes acquisitions sur la biologie des mollusques bivalves. *L'Année Biologique*, **38**: 27-50.
- Mann R. 1979a.** The effect of temperature on growth, physiology, and gametogenesis in the Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **38**: 121-133.
- Mann R. 1979b.** Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **59**: 95-110.
- Medhioub M.N. 1983.** La conchyliculture en Tunisie. Projet Tunis/92/002. *Direction Générale de la Pêche et de l'Aquaculture. PNUD/FAO*. 83pp.
- Medhioub M.N., Lymeam Y., Medhioub A. & El Abed A. 2000.** Développement gonadique de la palourde *Ruditapes decussatus* en milieu contrôlé. *Quatrièmes journées tunisiennes des sciences de la Mer- Mehdiia 17-19 nov 2000*.
- Morvan C. & Ansell A.D. 1988.** Stereological methods applied to reproductive cycle of *Tapes rhomboides*. *Marine Biology*, **97**: 355-364.
- Parache A. 1982.** La palourde. *La Pêche Maritime*, **1254**: 496-507.
- Rodriguez-Moscoso E. & Arnaiz R. 1998.** Gametogenesis and energy storage in a population of the grooved carpet-shell clam, *Tapes decussatus* (Linné, 1787), in northwest Spain. *Aquaculture*, **162**: 125-139.
- Sastry A.N. 1968.** The relationships among food, temperature, and gonad development of the bay scallop *Aequipecten irradians* Lamarck. *Physiological Zoology*, **41**: 44-53.
- Shafec M.S. & Daouadi M. 1991.** Gametogenesis and spawning in the carpet-shell clam, *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusc:bivalve), from the atlantic coast of Morocco. *Aquaculture and Fisheries Management*, **22**: 203-216.
- Toba M. & Miyama Y. 1991.** Gonadal development and spawning induction in artificially conditioned Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**: 1269-1275.
- Trigui-El Menif N., Le Pennee M. & Maamouri F. 1995.** La reproduction de la palourde *Ruditapes decussatus* (mollusque, bivalve) sur les côtes tunisiennes. *Vie Marine*, **5**: 35-42.
- Xie Q. & Burnell G.M. 1994.** A comparative study of the gametogenic cycles of the clams *Tapes philippinarum* (A. Adams & Reeve 1850) and *Tapes decussatus*

- (Linnaeus) on the south coast of Ireland. *Journal of Shellfish Research*, **13**: 467-472.
- Zamouri-Langar N. 1991.** Le cycle sexuel de *Tapes decussatus*, Linnaeus 1758 (Bivalve/Veneridae) dans le canal de Tunis. *Bulletin de l'Institut National des Sciences et Technologie de la mer, Salammbô, Tunis*, **18**: 5-22.
- Zine NE., Menioui M. & Zaouali J. 1998.** Etude préliminaire de l'embryologie, de la vie larvaire et juvénile de la palourde *Ruditapes decussatus* en milieu contrôlé. *Vie marine*, **8**: 19-24.