

Programme du Groupe de travail sur

LA REPRODUCTION DES MOLLUSQUES

BIVALVES D'AQUACULTURE MARINE

Mardi 14 Novembre 1995 *Matin*

Président
MAURICE HERAL

Rapporteur
JOSEPH MAZURIE

9 h 30 – 10 h	Introduction	NICOLE DEVAUCHELLE
10 h – 13 h	Connaissance des cycles naturels, des gamètes et des embryons	
10 h – 10 h 20	Cycle de reproduction naturelle de l'huître creuse <i>C. gigas</i>	PHILIPPE GOULLETQUER
10 h 20 – 10 h 40	Cycle de reproduction naturelle de l'huître plate <i>Ostrea edulis</i>	ANNE-GENEVIEVE MARTIN
10 h 40 – 11 h 00	Cycles de reproduction naturelle des moules	MARIE-JOSÉE DARDIGNAC
11 h 00 – 11 h 20	Cycle de reproduction naturelle des coquilles St Jacques	YVES-MARIE PAULET

Pause

11 h 30 – 11 h 45	Neurohormones liées à la reproduction	BERNADETTE GRIFFOND
11 h 45 – 12 h 00	Monoamines et reproduction chez <i>Pecten maximus</i>	FARHIDA BEKHADRA
12 h 00 – 12 h 15	Gamètes : références physiologiques	CATHERINE FAURE
12 h 15 – 12 h 30	Etude du développement embryonnaire de <i>Pecten maximus</i>	NATHALIE CASSE
12 h 30 – 13 h 00	Discussion	

Déjeuner

Mardi 14 Novembre 1995 *Après-midi*

Président
JEAN PIERRE GIRARD

Rapporteur
YAMAMA NACIRI

- 14 h – 16 h 30 **Connaissance des cycles contrôlés**
- 14 h 00 – 14 h 15 Estimation des stades de maturité de bivalves
NICOLE DEVAUCHELLE
- 14 h 15 – 14 h 30 Contrôle de la gamétogenèse d'un stock de géniteurs
d'huîtres plates méditerranéennes
CATHERINE VERCELLI
- 14 h 30 – 14 h 45 Contrôle de la gamétogenèse des huîtres creuses et plates.
Relations reproduction et génétique
ANDRÉ GÉRARD
- 14 h 45 – 15 h 00 Etat actuel des connaissances sur la reproduction artificielle de l'huître
CLARA MASSAPINA
- 15 h 00 – 15 h 15 Contrôle de la gamétogenèse chez la coquille St-Jacques :
température et photopériode
JEAN BARRET
- 15 h 15 – 15 h 30 Nutrition et reproduction des Bivalves
JEAN FRANÇOIS SAMAIN
- 15 h 30 – 15 h 45 Induction de la ponte chez la coquille St-Jacques
NADIA ROBILLARD
- 15 h 45 – 16 h 00 Adaptations méthodologiques pour la conservation à court terme des
gamètes, leur fécondation et l'incubation de *C. gigas* et *P. maximus*
NICOLE DEVAUCHELLE
- 16 h 00 – 16 h 30 **Discussion**

Pause

- 16 h 45 – 18 h 30 **Regard sur la reproduction des poissons**
- 16 h 45 – 17 h 15 Travaux et perspectives dans le monde
ROLAND BILLARD
- 17 h 15 – 17 h 45 La reproduction des poissons à l'Ifremer
JEAN LOUIS GAIGNON
- 17 h 45 – 18 h 30 **Discussion**

Mercredi 15 Novembre 1995

Matin

Président
FRANÇOISE LE MENN

Rapporteur
PHILIPPE RENARD

9 h 00 – 10 h 30

Indicateurs de qualité

9 h 00 – 9 h 20

Reproducteurs

L'analyse des parties dures peut-elle devenir un critère de sélection des mollusques reproducteurs ?

HÉLÈNE LARVOR

9 h 20 – 9 h 40

Gamètes et Embryons

Le sperme de *Crassostrea gigas* et *Pecten maximus*

NICOLE DEVAUCHELLE

9 h 40 – 10 h 00

Ovocytes et oeufs

GERMAINE DORANGE

10 h 00 – 10 h 30

Discussion

Pause

10 h 45 – 13 h 00

Synthèses et Discussions

Animateurs :
ALAIN BODOY
HENRI GRIZEL

Rapporteurs :
EMMANUEL THOUARD
SYLVIE NOUHANT

Déjeuner

* * *

EXPOSE INTRODUCTIF

N. DEVAUCHELLE

IFREMER/Centre de Brest, BP 70, 29280 PLOUZANE

La reproduction artificielle des Bivalves est, à Ifremer, un thème de Recherche à part entière depuis un peu moins de 10 ans.

Pour quel objectif a-t-il été développé, sur quelles espèces, dans quel contexte historique, biologique, physiologique ? Quels ont été les principaux éléments tactiques de recherche ? Quel sont les objectifs du séminaire ?

Telles sont les questions traitées dans cet exposé introductif.

CYCLE DE REPRODUCTION NATURELLE DE L'HUITRE CREUSE *C. GIGAS*.

GOULLETQUER P.

IFREMER/GAP/URAPC, B.P. 133 La Tremblade.

Depuis l'introduction dans les années 1970 de *C. gigas* sur le littoral français, seuls deux secteurs (i.e., littoral charentais, Bassin d'Arcachon) ont permis un cycle de reproduction complet aboutissant à un recrutement annuel régulier, et l'établissement de populations naturelles. Dans les autres bassins de production (Normandie, Bretagne, Vendée, Méditerranée), une gamétogenèse complète peut s'effectuer aboutissant à une ponte, et parfois un recrutement lorsque les conditions thermiques sont favorables. Le facteur « température » apparaît comme le principal facteur limitant la reproduction dans le milieu naturel. Les phases de croissance et de reproduction sont simultanées. Le cycle de reproduction des huîtres de 1 an montre une évolution asynchrone de la gamétogenèse avec une forte variabilité interannuelle alors que la phase de croissance apparaît prioritaire pour ces animaux. A l'inverse, les individus plus âgés montrent une maturation synchrone aboutissant à 1 ou 2 pontes massives, avec un métabolisme orienté de façon prioritaire vers la reproduction. L'effort de reproduction croît avec l'âge pour atteindre un poids de gamètes représentant 60% et 80% du poids sec de chair à l'âge de 2 et 3 ans respectivement. L'huître *C. gigas* est généralement considérée comme une espèce à hermaphrodisme successif protandrique.

CYCLE DE REPRODUCTION NATURELLE DE L'HUITRE PLATE *OSTREA EDULIS*

MARTIN A.G., A. LITTAYE-MARIETTE, A. LANGLADE, JP. ALLENOU

*Station IFREMER La Trinité sur Mer – Laboratoire Ressources Aquacoles
B.P. 86 – 12 rue des Résistants – 56 470 La Trinité sur Mer*

Cette contribution présente une synthèse non exhaustive des observations de différents auteurs, sur la reproduction de l'huître plate *Ostrea edulis*, d'Orton (1927) à Cunat et Perez (1990) citées en partie notamment par Andrews (1979) et Lubet (1991) et y intègre les éléments d'observations apportés par le suivi de la reproduction de cette huître dans le Morbihan. Ce suivi est réalisé chaque année par différentes équipes du laboratoire de La Trinité sur Mer dans le but d'informer les professionnels du captage. Les données recueillies sur 17 ans (de 1972 à 1988) ont été analysées par Anne-Littaye Mariette (publication en cours).

Les différents auteurs s'accordent pour dire l'importance de la température sur chaque étape de la reproduction de cette espèce incubatrice à hermaphrodisme asynchrone "rythmique consécutif". Certains soulignent la nécessité d'une période de repos sexuel hivernal et d'une température seuil permettant la reprise de la gamétogenèse. La notion d'un nombre de degrés-jours nécessaires à l'accomplissement de la gamétogenèse est reprise par plusieurs auteurs. L'émission des gamètes serait de plus liée à une température minimale critique. La durée de la vie larvaire est également thermodépendante. Enfin, l'autre facteur important cité est la nutrition qui conditionne la fécondité et le recrutement.

CYCLES DE REPRODUCTION NATURELLE DES MOULES

DARDIGNAC M.J.,

IFREMER, Place du Séminaire, 17 137 L'Houmeau

Une rapide synthèse est tout d'abord faite des études réalisées avant 1991 sur la reproduction des moules. Les travaux effectués entre 1991 et 1995 dans les différents laboratoires de l'IFREMER et les résultats obtenus sont ensuite décrits. Ces travaux n'ont pas été entrepris pour tenter d'expliquer ce qui fait que le cycle sexuel des moules d'une région et le captage qui en est l'aboutissement se déroulent ou non normalement. Prenant en compte les problèmes de captage qui sont apparus ces dernières années en Charente Maritime, une réflexion est amorcée sur l'opportunité d'engager des recherches destinées à expliquer les raisons de ces déficiences pour, éventuellement, essayer d'y remédier.

CYCLE DE REPRODUCTION NATURELLE DES COQUILLES SAINT-JACQUES

PAULET Y-M, F. BEKHADRA, A.DONVAL, C. SAOUT

URA CNRS 1513, Laboratoire "Flux de matière et réponses du vivant"
IUEM, UBO, 6 avenue Le Gorgeu, BP 809, 29 285 BREST cedex FRANCE
Tel : (33) 98 01 66.34, Fax : (33) 98 01 63 11, email : paulet@univ-brest.fr

Notre équipe s'est fixée comme objectif d'étudier la régulation des cycles annuels de reproduction chez les bivalves. Les interrogations scientifiques soulevées sont de deux ordres, d'une part elles relèvent de la compréhension des fluctuations d'abondance des populations naturelles (participation au PNDR), d'autre part elles contribuent à l'amélioration du contrôle de la production de produits sexuels à des fins aquacoles (collaboration avec IFREMER DRV/RA). L'espèce modèle retenue est la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus*.

L'étude, menée durant plusieurs années, de la reproduction de la coquille Saint-Jacques des populations de la baie de Saint-Brieuc et de la rade de Brest, a permis de formuler des hypothèses de fonctionnement indispensables au montage de protocoles expérimentaux. Ainsi les observations concernant, par exemple, la cinétique de la production gamétique et le cycle annuel des tissus de réserve ont conduit à la mise en oeuvre d'expériences de maturation contrôlée en éclosérie (collaboration avec l'éclosérie du Tinduff, CLPM). La démarche suivie semble prometteuse, elle sera également appliquée à la compréhension des mécanismes du déclenchement de la ponte ainsi qu'à la recherche d'éventuels cycles annuels de nutrition.

RECHERCHE DE FACTEURS NEUROPEPTIDIQUES IMPLIQUÉS DANS LE CONTRÔLE DE LA REPRODUCTION CHEZ PECTEN MAXIMUS

GRIFFOND B.*, F. JEGOU, N. DEVAUCHELLE**

*CNRS URA 561, Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Place Saint-Jacques,
25030 BESANCONS Cedex

**IFREMER/Centre de Brest, BP 70, 29280 PLOUZANE

Afin de détecter dans le système nerveux de *Pecten maximus* des facteurs peptidergiques contrôlant la reproduction, nous avons réalisé d'une part des investigations immunocytochimiques, d'autre part des cultures in vitro associant gonades et tissu nerveux.

L'utilisation d'antisera (AS) dirigés contre des peptides ou neuropeptides connus pour leur rôle dans la croissance et la reproduction des différentes espèces de Mollusques et de Vertébrés a permis de mettre en évidence des substances apparentées dans le système nerveux de *Pecten*, aux différents stades de maturation sexuelle. Ainsi, des AS anti-insuline, anti-APGWa et anti- α CDCP révèlent des populations plus discrètes et plus localisées.

In vitro, les résultats préliminaires suggèrent que le ganglion viscéral d'animaux en phase terminale de maturation sexuelle sécrète un facteur stimulateur des mitoses goniales dans la lignée mâle.

MONOAMINES ET REPRODUCTION CHEZ *PECTEN MAXIMUS*

F. BEKHADRA, Y.M. PAULET, A. DONVAL, C. SAOUT

*URA CNRS 1513, Laboratoire "Flux de matière et réponses du vivant"
IUEM, UBO, 6 avenue Le Gorgeu, BP 809, 29 285 BREST cedex FRANCE*

L'implication des monoamines dans le processus de reproduction des bivalves marins a fait l'objet de nombreux travaux. En effet, les expériences d'application *in vitro* et/ou *in vivo* de sérotonine et de la dopamine ont mis en évidence leur action sur le contrôle de la gamétogenèse et de la ponte chez de nombreux bivalves. Une dynamique saisonnière de ces amines a été mise en évidence, elle a été corrélée au cycle sexuel.

Dans notre étude, nous nous sommes proposé de quantifier (HPLC) la dopamine et la sérotonine dans les ganglions nerveux. Un suivi annuel a été entrepris sur une population naturelle de la rade de Brest. Les résultats mettent en évidence d'importantes quantités de monoamines et notamment en période de maturation de la gonade. Dans le cadre de notre travail, nous avons entrepris de suivre des animaux conditionnés en écloserie (température et photopériode). Les résultats des dosages suggèrent une influence de la température et de la photopériode sur le contenu en monoamines dans le système nerveux. Il semblerait que les basses températures favorisent l'accumulation de la dopamine.

L'ensemble des résultats devra contribuer à mieux comprendre le contrôle interne de la reproduction. De plus, un aspect appliqué devra en découler dans le domaine du conditionnement des géniteurs en écloserie. Ce dernier, devra être adapté pour une meilleure optimisation des rendements de production.

**GAMÈTES RÉFÉRENCES PHYSIOLOGIQUES : PARAMÈTRES DE L'ACTIVATION DES
SPERMATOZOÏDES CHEZ LA COUILLE ST-JACQUES *PECTEN MAXIMUS* (LINNÉ)
ET CHEZ L'HUÎTRE CREUSE *CRASSOSTREA GIGAS* (THUNBERG)**

FAURE C.*, N. DEVAUCHELLE*, JP. GIRARD, J. COSSON*****

*IFREMER - Centre de Brest, DRV/RA, Laboratoire Physiologie des Mollusques

** Université de Nice, Sophia Antipolis, faculté des Sciences, Laboratoire de Physiologie cellulaire et comparée, Parc Valrose, 06034 NICE Cedex

*** URA, 671 du CNRS, Université de Paris 6, station marine 06230 VILLEFRANCE-SUR-MER

Une série de techniques qui permet la mesure des paramètres les plus représentatifs de l'activation des spermatozoïdes au cours de leur émission dans l'eau de mer est décrite. Dans le cas de *Pecten maximus*, le sperme concentré est prélevé au gonopore d'animaux stimulés par une injection de sérotonine. Pour *Crassostrea gigas*, le sperme concentré est obtenu par scarification de la gonade d'animaux non stimulés. Les mesures sont effectuées après la dilution du sperme concentré dans l'eau de mer, reproduisant ainsi les conditions naturelles d'émission au moment de la fécondation. La consommation en oxygène est mesurée dans la chambre d'une électrode de Clark. La mobilité est évaluée soit en microscopie optique en fond noir en lumière transmise, soit sous éclairage stroboscopique. Les caractéristiques physiques du battement flagellaire (fréquence) et du déplacement des spermatozoïdes (vitesse, forme de trajectoire) sont également estimées.

L'influence sur ces paramètres des principaux facteurs ioniques du milieu dans lequel les spermatozoïdes sont émis est étudiée. La diminution du pH de l'eau de mer entraîne une diminution des capacités des spermatozoïdes à respirer et à se déplacer pour les deux espèces. L'absence de Na⁺ dans l'eau de mer entraîne des conséquences identiques pour *Pecten maximus* seulement. L'augmentation de la concentration en K⁺ (200mM) présente un effet activateur chez *Crassostrea gigas* seulement. Ces résultats permettent de suggérer la nature des mécanismes qui accompagnent l'activation des spermatozoïdes (respiration, nage, fécondation) au cours de leur dilution dans l'eau de mer. Dans le cas de *Pecten maximus*, une alcalinisation cellulaire semble nécessaire à l'activation des spermatozoïdes. Chez *Crassostrea gigas*, il est difficile de conclure hormis sur le rôle joué par le K⁺ qui se rapproche des observations faites chez certains mammifères.

ETUDE DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE *PECTEN MAXIMUS* (L.)

CASSE N.*, N. DEVAUCHELLE**

*URA CNRS D 1513, Laboratoire de Biologie Marine, Institut d'Etudes Marines, 6 avenue Le Gorgeu, B.P. 809, 29 285 Brest Cedex.

** IFREMER - Centre de Brest, DRV/RA, Laboratoire Physiologie des Mollusques

La chronologie du développement de la coquille Saint-Jacques a été étudiée depuis l'oeuf jusqu'à la larve D, et ceci pour des conditions d'élevage standard. Après la fécondation, l'embryon de coquille Saint-Jacques va subir successivement les processus de méiose, de segmentation, de gastrulation et d'organogenèse. La méiose permet l'expulsion des 2 globules polaires entre 30 et 45 mn. La segmentation s'étale sur les 7 premières heures de développement. La gastrulation s'étend de 8 à 12 h après la fécondation, et conduit à la formation d'une larve ciliée: la gastrula. Durant l'organogenèse, sont observés des stades caractéristiques tels que trochophore, véligère et larve D ; de plus, le vélum, le manteau, la coquille, la musculature et le tractus digestif se développent.

L'étude de l'embryogenèse de *Pecten maximus* a permis l'obtention de données fondamentales sur le développement de cette espèce. Cependant, il est à noter que les performances des élevages embryonnaires sont très variables, c'est pourquoi, l'estimation de la qualité d'un élevage semble indispensable. Bien que les résultats obtenus ici ne permettent pas de prédire la performance d'un élevage, l'obtention d'indications sur le devenir d'un lot d'embryons est néanmoins possible.

ESTIMATION DES STADES DE MATURITE DE BIVALVES

DEVAUCHELLE N., THIELLEY M., SALAÜN G.

IFREMER, Centre de Brest, Direction des Ressources Vivantes, Laboratoire Physiologie des Mollusques

L'option fécondation artificielle, choisie en France pour la production d'embryons de bivalves, implique les notions de prévision et de synchronisation des gamétogenèses et des pontes. Les pontes sont le plus souvent imprévisibles à quelques jours près; en écloséries, les pontes imprévues sont le plus souvent totales et perdues; les pontes provoquées par l'homme, souvent partielles, immatures, surmatures.

Dans une population donnée, la synchronisation des gamétogenèses est rare dans la nature ou en conditionnement. Dans le cas du conditionnement, l'asynchronisme interindividuel est accentué du fait de l'imprécision des méthodes d'estimation de l'état de maturité des reproducteurs placés en bassins.

Comment estimer cet état précisément en cours de gamétogenèse, sans sacrifier les individus, est la question à laquelle nous apportons, ici, des éléments de réponse.

Pour affiner l'estimation de cet état, il est nécessaire d'accéder à la gonade. Chez les animaux qui "clappent" naturellement des valves, l'accès se fait en maintenant les valves ouvertes. C'est le cas de *Pecten maximus*. Chez les espèces qu'on ne peut maintenir ouvertes, l'accès peut être envisagé soit après perforation de la coquille (lime, mini perceuse...) soit, après induction du bâillement (froid, produits chimiques). Il en est ainsi pour *Ruditapes philippinarum*, *Ostrea edulis* et *Crassostrea gigas*. Le chlorure de magnésium à 35 ‰ donne, pour ces dernières espèces, les meilleurs résultats.

La gonade étant accessible, des biopsies peuvent être pratiquées. Nous avons constaté que l'observation de fragments de tissus, prélevés par biopsie à la pince bronchoscopique, donne à l'issue d'une préparation histologique (48h), une évaluation des stades de gamétogenèse plus fiable que celle donnée à l'issue d'une évaluation macroscopique. Un mois après la biopsie, aucune mortalité, aucun retard de gamétogenèse ne sont enregistrés.

La validation de ces observations à grande échelle est nécessaire avant de généraliser ces pratiques en début et cours de gamétogenèse. Pour des diagnostics urgents, le délai actuel d'observation des fragments (48h) devra être réduit.

CONTRÔLE DE LA GAMÉTOGÈNESE D'UN STOCK DE GÉNITEURS D'HUÎTRES PLATES MÉDITERRANÉENNES

VERCELLI C. , D. COATANEA, JM. CHABIRAND, J. OHEIX

Unité Diversification Conchylicole, Station IFREMER de Palavas

Un stock de 1100 géniteurs d'huître plates méditerranéennes a été maintenu au froid (7-8°C) en circuit fermé sur filtration biologique durant 10 mois. Des prélèvements bimestriels ont permis de suivre l'évolution de l'indice de condition, de la maturation sexuelle et des teneurs en lipides, glucides totaux et glycogène. Les observations montrent que le processus de gamétogenèse n'est pas bloqué mais que le déclenchement des émissions de larves est inhibé. Les lots de géniteurs issus de ce stock et conditionnés à une température de 18-19°C ont tous produit des émissions larvaires réparties selon un calendrier programmé de mai à novembre sans dégradation des caractéristiques biométriques et biochimiques des larves.

**CONTRÔLE DE LA GAMÉTOGÈSE DES HÛTRES CREUSES ET PLATES.
RELATIONS REPRODUCTION ET GÉNÉTIQUE.**

A. GERARD

IFREMER La Tremblade, Laboratoire Génétique Aquaculture et Pathologie

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

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

ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES SUR LA REPRODUCTION ARTIFICIELLE DE L'HUÎTRE *CRASSOSTREA ANGULATA* AU PORTUGAL

MASSAPINA C.

*Instituto Portugues de Investigaçao Maritima/ Centro de Investigaçao maritima do Sul Av. 5
de Outubro, 8700-Olhao. PORTUGAL.*

La recherche sur la reproduction artificielle de cette espèce est relativement récente au Portugal et se centre surtout sur l'optimisation de la qualité des larves.

Les résultats maintenant présentés portent sur :

- La comparaison des caractéristiques de la ponte des huîtres sauvages et des huîtres conditionnées;
Ces expériences ont montré que les femelles conditionnées peuvent atteindre une fécondité plus forte que les femelles sauvages pendant la saison de ponte. Le nombre d'ovocytes émis par les huîtres conditionnées est rapporté à l'état des animaux en début des manipulations.
- L'effet de la température d'induction, de fécondation et d'incubation et du délai entre l'émission des ovocytes et la fécondation sur le taux d'éclosion des larves;
En ce qui concerne ces paramètres, c'est le délai émission des ovocytes/fécondation qui est le plus fortement corrélé avec la survie des larves D ($r=0,8105$ $P>0,01$).
- L'effet de la méthode d'obtention des gamètes sur la viabilité des larves;
Ces essais ont montré que le taux d'éclosion est plutôt dépendant de la qualité des ovocytes que de la méthode d'induction. On vérifie une forte variabilité entre la viabilité des larves de chaque femelle.
- Les caractéristiques des pontes pendant une saison (Printemps/Eté 1995).
Des échantillonnages bimensuels sur les animaux ont montré qu'il y a des relations entre certains paramètres des géniteurs (indice de condition, diamètres des ovocytes pris de la gonade) et ceux des ovocytes (nombre émis) et les larves (taux d'éclosion). Le taux d'éclosion des larves baisse pendant l'époque de ponte.

Pour le futur, la recherche devra porter sur la définition des critères de la qualité des ovocytes obtenus en laboratoire par rapport aux ovocytes des animaux provenant du milieu naturel.

CONTRÔLE DE LA GAMÉTOGÈSE CHEZ LA COQUILLE SAINT JACQUES TEMPÉRATURE ET PHOTOPÉRIODE

BARRET J., N. DEVAUCHELLE

IFREMER, DRV/RA, Laboratoire de Physiologie des Mollusques, B.P. 70, 29 280 Plouzané

Les études sur la reproduction des coquilles St-Jacques dans le milieu naturel ont montré que des facteurs externes intervenaient sur la gamétogenèse principalement, la température, la photopériode et la nourriture :

- la température peut initier ou inhiber la gamétogenèse,
- la photopériode a un rôle de déclencheur de la gamétogenèse.

Après une période au cours de laquelle on se contentait de prélever les géniteurs dans le milieu et de stimuler la ponte, les écloséries ont conditionné les géniteurs en intervenant sur la température et la photopériode, tout en assurant une nourriture en quantité. Ceci a permis d'obtenir des pontes décalées par rapport au cycle naturel.

Le standard actuel pour *Pecten maximus* « température 13 ° 5, photopériode croissante : + 2mn/jour » autorise, après 2 mois de conditionnement, la stimulation des pontes par choc thermique. Les résultats obtenus sont corrects pendant le premier semestre.

La stratégie d'élevage « disponibilité des installations d'élevage post-larvaire et du matériel de pré-élevage - de 2 à 25/30 mm » demande des pontes plus tardives, dites estivales. De nouveaux protocoles sont en cours d'étude.

L'avenir de la conchyliculture passera par les écloséries (souches sélectionnées, nouvelles espèces...). Ceci nécessitera une gestion pluriannuelle des stocks de géniteurs et des méthodes fiables pour gérer ces populations. Pourquoi ne pas s'inspirer des protocoles utilisés pour d'autres groupes d'espèces (poissons, crustacés) et assurer un décalage artificiel en inversant les conditions de température et de photopériode ?

NUTRITION ET REPRODUCTION DES BIVALVES

SAMAIN JF., C.SAOUT*, P.SOUDANT, J.R.LE COZ, C.SEGUINEAU, C.QUERE, JP CONNAN,
M.MAZURET, P.MINER, ML. MUZELLEC***, Y.MARTY**, J.MOAL, Y.M.PAULET*,
R.ROBERT

*Laboratoire de physiologie des mollusques, IFREMER-Centre de Brest, BP 70, 29280
Plouzané.*

**Laboratoire "Flux de matière et réponse du vivant", URA CNRS 1513, IUEM, UBO, BP452,
29275 Brest.*

***Laboratoire de chimie marine, URA CNRS 322, UBO 29200 Brest*

****Écloserie-nurserie du Tinduff, Port du Tinduff, 29213 Plougastel-Daoulas*

Une revue bibliographique concernant la nutrition des géniteurs des huîtres *C.gigas* et *O.edulis*, de la palourde *R.philippinarum*, et de plusieurs espèces de pectinidés, permet de faire le point sur les connaissances dans le domaine et d'identifier les questions qui ne sont pas encore bien résolues.

Concernant les réserves somatiques du reproducteur : l'utilisation des réserves en glycogène, protéines et lipides pendant la gamétogenèse sera discutée selon l'apport nutritionnel offert aux géniteurs en conditionnement. Les PUFA 20:5 et 22:6W3 sont reconnus comme essentiels. La question de leur apport par les réserves est soulevée, en particulier, si le régime en éclosion est carencé.

On ne connaît pas les modalités d'accumulation de ces réserves en éclosion, ni leur importance quantitative et qualitative pour le conditionnement. C'est un point sur lequel un travail a été entrepris chez la Coquille St-Jacques (Contrat de Baie). En manipulant la température et la photopériode on peut orienter l'accumulation de réserves soit vers le compartiment somatique et freiner la gamétogenèse, ou inversement, vers le compartiment germinale. Les conditions de transfert des réserves somatiques vers les gonades doivent faire l'objet de la poursuite de ce travail. En effet, c'est un premier niveau de stockage de l'énergie et des molécules essentielles. La question reste ouverte de savoir si la qualité de ce stockage préalable, selon la saison, ou l'histoire du géniteur, peut expliquer une partie de la variabilité de la reproduction en éclosion.

Concernant la qualité des gonades et des oeufs : d'un point de vue quantitatif, l'énergie utilisée pour l'embryogenèse est variable selon les espèces et leur conditionnement : de l'ordre de 40 à 96% fournie par les lipides, 40% par les protéines et 7 à 10% par les sucres. Le stockage de cette énergie est obtenu avec des régimes de l'ordre de 6% d'algues (poids sec d'algues/poids sec de chair) pour les différentes espèces de bivalve, à leur optimum thermique. La quantité des réserves lipidiques de l'oeuf est souvent associée à la qualité des oeufs. Cependant, plusieurs auteurs montrent que le nombre de larves produites et leur survie dépend aussi de la qualité lipidique de l'ovocyte. D'un point de vue qualitatif, le 20:5W3 de l'ovocyte aurait aussi un rôle énergétique car il est consommé intensivement pendant l'embryogenèse. Le 22:6W3 apparaît indispensable pour la reproduction et l'embryogenèse.

Pour préciser ces données, nous avons réalisé une étude sur la Coquille St-Jacques qui a permis de montrer le fort impact de la qualité en stérols et en PUFA de la nourriture des géniteurs, sur la composition des lipides de réserve et des membranes dans la gonade et les ovocytes. Des conséquences sur les performances de gamétogenèse et d'embryogenèse ont été observées. La rétention préférentielle du cholestérol et des acides gras 22:6W3, 20:5W3 et 20:4W3 dans certains phospholipides des ovocytes, au cours de la gamétogenèse souligne leur essentialité. Ces mécanismes permettent d'approcher les besoins lipidiques des géniteurs. Enfin, une forte utilisation des réserves en vitamines des oeufs, durant l'embryogenèse souligne l'importance qu'il faudra accorder à ce nouvel aspect.

La poursuite des travaux sur les huîtres est proposée dans ce sens.

INDUCTION DE LA PONTE CHEZ LA COQUILLE SAINT-JACQUES : UTILISATION DES NEUROTRANSMETTEURS

DOUBOVICK-ROBILLARD N.*, N. DEVAUCHELLE**, P. MICARELLI**, P. GUERRIER***

*34 Avenue PRAUD, 44300 NANTES,

**IFREMER/Centre de Brest- DRV/RA/Mollusques, BP70, 29280 PLOUZANE,

***E.N.S. LYON.

L'utilisation de la coquille Saint-Jacques en tant que géniteur nécessite de contrôler ses émissions de sperme et d'ovocytes pour sa reproduction maîtrisée. L'injection de neurotransmetteurs serait le moyen d'obtenir rapidement et simplement ceux-ci. Le traitement par la sérotonine donne de bons résultats pour la récupération de gamètes mâles. Les essais *in vitro* sur le rôle de la sérotonine tendent à montrer que ce neurotransmetteur joue un rôle dans la maturation ovocytaire. Toutefois, *in vivo*, il n'a provoqué des émissions d'ovocytes qu'après une deuxième injection, à 15 jours d'intervalle avec la première. Dans l'état actuel de nos connaissances, les études futures devraient s'employer à donner une meilleure appréciation du stade physiologique des animaux au moment du traitement. Elles doivent s'orienter vers une compréhension plus poussée de la physiologie hormonale de cette espèce.

**ADAPTATIONS MÉTHODOLOGIQUES POUR LA CONSERVATION À COURT TERME
DES GAMÈTES, LEUR FÉCONDATION
ET L'INCUBATION DE *CRASSOSTREA GIGAS* ET *PECTEN MAXIMUS* :**

DEVAUCHELLE N.* , C. FAURE* , ORSINI L.* , MICARELLI P.* , DOBOVICK N. ,
COSSON J.*****

** IFREMER/Centre de Brest – DRV/RA/Mollusques, BP70, 29280 PLOUZANE*

***34 Avenue PRAUD, 44300 NANTES,*

****URA, 671 du CNRS , Université de Paris 6, station marine,
06230 VILLEFRANCE – SUR – MER*

En écloserie, les larves sont produites à l'issue de fécondations artificielles. Les taux d'éclosion sont très variables. Cette variabilité est attribuable à l'inconstance de la qualité intrinsèque des gamètes, aux caractéristiques du milieu ainsi qu'aux pratiques méthodologiques.

Les résultats présentés illustrent l'effet de pratiques méthodologiques. Existe-t-il un gradient de qualité du sperme, pendant une émission, par un même animal ? Le froid ou un milieu acide préservent-ils le pouvoir fécondant du sperme ; et si oui, pendant combien de temps ? Doit-on considérer qu'il existe un ratio optimal spermatozoïde/ovocyte ? Les procédés d'incubation peuvent-ils ou doivent-ils être améliorés ? Telles sont les questions auxquelles nous répondons ici.

Il sera, par ailleurs, indiqué que l'eau de mer naturelle peut être létale de par des caractéristiques momentanées, difficilement appréciables. La réalisation d'expériences en eau de mer artificielle, évite la subordination à de tels effets.

Dès lors que pratiques méthodologiques et caractéristiques du milieu peuvent considérablement modifier le succès de fécondation et de développement précoce, il apparaît nécessaire de s'entourer de précautions lorsque l'on veut expérimentalement analyser uniquement les effets d'un conditionnement ou d'une souche de reproducteurs sur la qualité des gamètes et des zygotes.

LA REPRODUCTION DES POISSONS A L'IFREMER

J.-L. GAIGNON

Laboratoire de Physiologie des Poissons, IFREMER DRV/RA Brest

Dès lors que, chez les poissons marins tempérés (turbot et bar), l'approvisionnement en gamètes n'est plus une contrainte quantitative au développement de l'activité, l'objectif premier du programme de l'IFREMER a été de contrôler la reproduction afin d'en améliorer les performances et de servir de base fiable aux travaux menés dans le domaine de la génétique. A cette fin, le groupe Poissons (Brest et Palavas) s'attache (1) à définir des critères de qualité des gamètes (caractéristiques précoces des gamètes mâles, femelles et des oeufs) et des larves jusqu'aux premiers jours d'alimentation (ce qui nécessite une standardisation des méthodes d'élevage), (2) à améliorer, par rapport à ces critères, le contrôle individuel (caractéristiques parentales, facteurs de qualité des pontes, maîtrise de la fécondation et induction hormonale) et le contrôle environnemental (obtention de pontes spontanées, facteur alimentaire, facteurs d'environnement) de la reproduction. Un second objectif du programme, apparu plus récemment, consiste à appréhender la reproduction dans ces effets "néfastes" sur la croissance : étude des relations croissance/entrée en puberté, étude du sexe-ratio, du dimorphisme sexuel et contrôle hormonal et environnemental du sexe.

L'ANALYSE DES PARTIES DURES PEUT-ELLE DEVENIR UN CRITÈRE DE SÉLECTION DES MOLLUSQUES REPRODUCTEURS ?

LARVOR H., N. DEVAUCHELLE, J.P. CUIF, G. SALAÛN

IFREMER Centre de Brest - DRV-A, BP 70, 29280 PLOUZANE

Pour régulariser les productions de masse en éclosérie de mollusques, il faut tout d'abord bien connaître la biologie de l'animal afin de standardiser un développement type et de noter ses déviations ou anomalies – signaux d'alarmes pour le manipulateur. Ces connaissances doivent permettre de sélectionner des animaux ou des gamètes de bonne qualité pour la reproduction. Si la démarche logique conduit tout d'abord à étudier le système reproducteur, l'observation corrélée des autres organes peut fournir des critères de sélection supplémentaires, parfois plus faciles à mettre en oeuvre.

Dans ce contexte, l'étude de la coquille a été engagée à titre prospectif, de façon à savoir si des modifications dans son développement pouvaient être associées à de mauvaises performances reproductrices. La coquille Saint Jacques a été choisie comme exemple.

Chez cette espèce, les valves ont une microstructure calcitique foliée, sauf au niveau des insertions musculaires où le carbonate de calcium est cristallisé sous forme d'aragonite. Les fractions organiques –soluble, insoluble– représentent 1 à 2% du poids du test et sont constituées majoritairement de protéines acides (60 à 70% d'acides aminés acides : acides aspartique et glutamique).

Les anomalies rencontrées peuvent être :

- morphologiques (croissance anarchique liée au gymnodium, modifications structurales internes –poches organiques englobant des endobiontes, anneaux bruns, problèmes de colorations internes),
- microstructurales (altérations des cristaux foliés liées à des anomalies de coloration en milieu naturel, à des chocs salins ou à des traitements pesticides),
- de composition (modifications de la composition organique –protéique et pigmentaire).

Dans le milieu naturel, ces modifications sont associées à des affaiblissements des bivalves. Dans le cas de brunissement étendu, on observe un amaigrissement et une forte teneur en eau dans le muscle et la gonade. Chez les coquilles les plus brunes de la Rade de Brest, on a enregistré une accumulation de PCB et de Lindane dans la gonade.

En conditions contrôlées, l'élevage en eau contaminée par des pesticides (mécoprop et diuron) ou en eau de faible salinité engendre des altérations structurales et microstructurales de la coquille. Ces conditions « stressantes » provoquent un affaiblissement musculaire qui s'exprime par une augmentation significative de la teneur en eau. Le développement de la gonade semble également perturbé.

LE SPERME DE *CRASSOSTREA GIGAS* ET *PECTEN MAXIMUS* : CRITÈRES D'APTITUDE À FÉCONDER

DEVAUCHELLE N.*, C. FAURE*, P. MICARELLI*, L. ORSINI*, J. COSSON**

*IFREMER Centre de Brest – DRV-A, BP 70, 29280 PLOUZANE

** URA, 671 du CNRS, Université de Paris 6, station marine,
06230 VILLEFRANCE-SUR-MER

Les lots de sperme n'ont pas tous la même aptitude à féconder les ovocytes.

Cette communication rappelle la définition de l'aptitude à féconder, les généralités sur l'acquisition de cette aptitude. Elle présente aussi des résultats récents concernant les relations entre fécondation et caractéristiques du sperme, lorsque : les critères de fécondation sont la reprise de méiose, la pénétration du spermatozoïde, l'amphimixie et/ou les multiplications cellulaires.

Les critères d'aptitude des spermatozoïdes à féconder, sont le temps durant lequel ils sont aptes à féconder, après dilution dans l'eau de mer, le ratio optimal spermatozoïdes-ovocytes, l'anatomie du spermatozoïde, sa consommation en oxygène et plusieurs paramètres de la mobilité dont certains (VAP, ALH, VCL, VSL) sont estimés par un système CASA en cours de mise au point.

L'analyse des relations entre fécondation et caractéristiques du sperme montre que l'aptitude du sperme de *Pecten maximus* à féconder, est diagnostiquable par les mesures de mobilité et de consommation en oxygène.

En revanche, des critères de qualité sont plus difficiles à faire apparaître pour *Crassostrea gigas*. Indépendamment de la température ou des méthodes de collecte, le sperme a un comportement très variable. En moyenne, les taux de fécondation sont faibles comparés à ceux calculés pour *Pecten maximus*. Les résultats des très nombreux tests de fécondation réalisés nous conduisent à penser que le sperme de *Crassostrea gigas* est généralement récolté immature. Dans ce cas, avant d'être soumis à des tests de qualité, ce sperme devrait donc subir un traitement de maturation ou de capacitation. D'un autre côté, des ovocytes récoltés par scarification gagnent à être incubés avant fécondation. Ceci va dans le sens d'une immaturité des gamètes que l'on prélève de *Crassostrea gigas*.

On ne peut, cependant pas écarter l'hypothèse que, pour des raisons qui resteraient à déterminer, la qualité du sperme de *Crassostrea gigas* ne puisse pas être révélée par des tests, a priori.

De tels travaux sont utiles lorsqu'il est souhaitable de trier les lots de spermes notamment avant cryopréservation et fécondation.