

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

ETUDE *IN SITU* ET EXPERIMENTALE DE
L'EFFORT DE REPRODUCTION CHEZ
L'HUITRE PERLIERE *Pinctada margaritifera*

GANGNERY Aline

Promotion 92

Stage effectué du 15 février au 31 août 1997 au centre IFREMER de Polynésie Française
Centre Océanologique du Pacifique

Soutenu le 19 septembre 1997 devant le jury composé de :

Melle MOREAU :	Présidente et Responsable du département Sciences et Techniques des Productions Animales à l'E.S.I.T.P.A.
M. LLORENS :	Responsable du département Sciences et Techniques des Productions Végétales à l'E.S.I.T.P.A.
M. BODOY :	Maître de stage et Responsable du laboratoire Huîtres Perlières à l'IFREMER - COP.
Melle MARIOJOULS :	Professeur de stage et maître de conférences à l'I.N.A.

ABSTRACT

The aim of this work is to study reproductive effort of the pearl oyster *Pinctada margaritifera*. In order to reach this objective, two experiences were planned.

First, we decided to follow *in situ* growth and reproduction of pearl oysters of three age groups : 1, 2 and 3 years old. This project began at the end of march 1997 and is planned for one year. The results presented in this study stopped at the end of july 1997. This experience is based on the bimonthly sampling of 120 pearl oysters (40 from every age group) from the lagoon of Takapoto (Tuamotu, French Polynesia).

In a second part, an experience was lead in laboratory, on the same animals. The objective was to trigger artificially spawns and to harvest genital products to estimate values of reproductive effort.

The *in situ* experience has shown an important and synchronous spawn at the end of may, for pearl oysters aged of 2 and 3 years. This observation allowed to estimate a reproductive effort, on the period, for these two age groups : 310 mg for the two years old and 390 mg for the three years old. Any important spawn was observed, on the period, in one year old, although the sexual maturity is already got because of genital products presence. More generally, the reproductive cycle of *Pinctada margaritifera* is characterized by many partial and asynchronous spawns, all along the year. Regressions microscopically observed, in this study, show partial and asynchronous spawns or cellular resorptions without spawn.

The laboratory experience allowed to estimate a reproductive effort of the three age groups : 29 mg for the one year old, 105 mg for the two years old and 117 mg for the three years old. The results are underestimated in relation to results obtained by the *in situ* experience, except for one year old. However, it showed that the one year old have a small reproductive effort in relation to the two other age groups. Moreover, two years old presente a less important reproductive effort than the three years old. Finally, this experience, which was lead about two temperatures (26 and 31°C), showed no influence of this factor on gametogenesis of the species.

RESUME

L'objectif de ce travail est l'estimation de l'effort de reproduction de l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. Pour ce faire, deux expérimentations ont été mises en oeuvre :

- Une étude *in situ* a permis de suivre la croissance et la reproduction d'huîtres perlières, âgées de 1, 2 et 3 ans, élevées dans le lagon de Takapoto, sur la période du 25 mars au 29 juillet 1997. Ce suivi est basé sur le prélèvement bimensuel de 120 huîtres perlières (40 par classes d'âge).

- Une étude expérimentale, visant à compléter le suivi *in situ*, a été menée sur les mêmes animaux. L'objectif était d'obtenir artificiellement des pontes, d'en récolter les produits et de mesurer les valeurs d'effort de reproduction par deux méthodes, en poids et en nombre.

L'expérience *in situ* a montré, pour les huîtres de 2 et 3 ans, l'existence d'une ponte synchrone et importante à la fin du mois de mai. Cette observation a permis d'estimer la production de gamètes (Pr) ainsi que l'effort de reproduction (ER) sur la période pour ces deux classes d'âge : environ 310 mg pour les huîtres âgées de deux ans et environ 390 mg pour les huîtres âgées de 3 ans. Sur cette période, aucune ponte importante n'a été mise en évidence chez les huîtres âgées d'1 an, bien que la maturité sexuelle soit déjà acquise à cet âge, puisque ces animaux possèdent des produits génitaux. Plus généralement, le cycle de reproduction de *Pinctada margaritifera* se caractérise par des pontes partielles asynchrones tout au long de la période et pour les trois classes d'âge. Ceci est montré par la présence quasi-permanente de régressions observées microscopiquement. Ces régressions sont, soit le témoin de pontes partielles et asynchrones non quantifiables, soit le témoin d'une résorption lors de périodes d'amaigrissement.

L'étude expérimentale a permis d'estimer une production de gamètes pour les trois classes d'âge d'environ 29 mg pour les 1 an, 105 mg pour les 2 ans et 117 mg pour les 3 ans. Les résultats expérimentaux sont plus faibles que ceux obtenus lors du suivi *in situ* mais les tendances sont similaires. Les huîtres d'1 an s'investissent moins dans leur fonction de reproduction que les nacres de 2 et 3 ans. L'investissement des huîtres perlières dans leur fonction de reproduction augmente avec l'âge. Enfin, cette expérience, menée sur deux températures (26 et 31°C), a également montré l'absence d'influence de ce facteur sur la maturation.

SOMMAIRE

<u>1.</u>	<u>INTRODUCTION GENERALE</u>	<u>4</u>
<u>2.</u>	<u>GENERALITES</u>	<u>6</u>
<u>2.1</u>	<u>L'activité nacrée et perlière en Polynésie française</u>	<u>6</u>
<u>2.2</u>	<u>RAPPEL DES CONNAISSANCES SUR <i>Pinctada margaritifera</i></u>	<u>7</u>
<u>2.2.1</u>	<u>Systématique de l'espèce <i>Pinctada margaritifera</i></u>	<u>7</u>
<u>2.2.2</u>	<u>Répartition géographique</u>	<u>8</u>
<u>2.2.3</u>	<u>Organisation interne</u>	<u>8</u>
<u>2.2.4</u>	<u>Physiologie et bioénergétique de l'espèce</u>	<u>10</u>
<u>2.3</u>	<u>description de l'atoll de Takapoto</u>	<u>11</u>
<u>2.3.1</u>	<u>Situation géographique et géomorphologie de l'atoll</u>	<u>11</u>
<u>2.3.2</u>	<u>Environnement climatique de l'atoll</u>	<u>12</u>
<u>2.3.3</u>	<u>L'hydrodynamisme lagunaire</u>	<u>12</u>
<u>2.3.4</u>	<u>Ecosystème lagunaire</u>	<u>13</u>
<u>3.</u>	<u>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA REPRODUCTION DES BIVALVES</u>	<u>16</u>
<u>3.1</u>	<u>INTRODUCTION</u>	<u>16</u>
<u>3.2</u>	<u>SEXUALITE</u>	<u>16</u>
<u>3.3</u>	<u>CYCLE DE REPRODUCTION ET AGE A LA PREMIERE MATURETE SEXUELLE</u>	<u>17</u>
<u>3.3.1</u>	<u>Cycle de reproduction des bivalves</u>	<u>17</u>
<u>3.3.2</u>	<u>Age a la première maturité sexuelle</u>	<u>19</u>
<u>3.4</u>	<u>ESTIMATION DE L'EFFORT DE REPRODUCTION</u>	<u>21</u>
<u>3.4.1</u>	<u>Définition de l'effort de reproduction</u>	<u>21</u>
<u>3.4.2</u>	<u>Méthode de détermination de l'effort de reproduction</u>	<u>22</u>
<u>3.4.3</u>	<u>Conclusion - exemples de valeurs d'effort de ponte</u>	<u>23</u>
<u>3.5</u>	<u>INDICATEURS CLASSIQUEMENT ETUDIES POUR LA REPRODUCTION</u>	<u>24</u>
<u>3.5.1</u>	<u>Critères macroscopiques</u>	<u>24</u>
<u>3.5.2</u>	<u>Critères microscopiques</u>	<u>25</u>
<u>3.5.3</u>	<u>Dosages biochimiques : protéines / lipides / glucides</u>	<u>29</u>
<u>3.5.4</u>	<u>Conclusion</u>	<u>30</u>

<u>3.6</u>	<u>FACTEURS INFLUENCANT LA MATURATION ET/OU LA PONTE</u>	<u>31</u>
3.6.1	Température	31
3.6.2	Salinité	31
3.6.3	Nutrition	32
3.6.4	Interactions	32
3.6.5	Conclusion	32
<u>3.7</u>	<u>Conclusion générale a la synthese</u>	<u>32</u>
<u>4.</u>	<u>ETUDE IN SITU DE LA REPRODUCTION</u>	<u>34</u>
<u>4.1</u>	<u>Matériel et méthodes</u>	<u>34</u>
4.1.1	Matériel vivant	34
4.1.2	Variables étudiées	35
4.1.3	Traitement statistique des données	39
4.1.4	Méthode de calcul de l'effort de reproduction	40
<u>4.2</u>	<u>Résultats</u>	<u>42</u>
4.2.1	Variation temporelle du poids de chair humide et du poids de coquille humide	42
4.2.2	Variation temporelle des stades de maturité sexuelle	44
4.2.3	Variation temporelle du pourcentage en eau	47
4.2.4	Les poids des différents organes secs	49
4.2.5	Variation temporelle des rapports gonado-somatiques	51
4.2.6	Variation temporelle des taux de protéines, lipides, et glucides totaux	55
4.2.7	Conclusion sur les périodes de ponte	60
4.2.8	Estimation <i>in situ</i> d'un effort de ponte	60
4.2.9	Bilan énergétique des productions sur la période considérée	62
4.2.10	Conclusion générale	64
<u>4.3</u>	<u>discussion</u>	<u>64</u>
4.3.1	Critique du plan d'échantillonnage	64
4.3.2	Critique des variables utilisées	65
4.3.3	Cycle de reproduction de <i>Pinctada margaritifera</i>	75
4.3.4	La quantification <i>in situ</i> de l'effort de reproduction	76
4.3.5	Conclusion	77
<u>5.</u>	<u>ETUDE EXPERIMENTALE DE LA REPRODUCTION</u>	<u>78</u>
<u>5.1</u>	<u>MATERIEL ET METHODES</u>	<u>78</u>

5.1.1	Présentation et organisation de la salle d'expérimentation (Photo 14)	78
5.1.2	Plan d'expérience	79
5.1.3	Paramètres fixés et suivis au cours de l'expérience	80
5.1.4	Mesure de l'effort de ponte	81
5.1.5	Traitement statistique des données	83
5.2	Resultats	84
5.2.1	Suivi du milieu	84
5.2.2	Bilan des pontes obtenues	85
5.2.3	Nombre d'huîtres ayant pondu après déclenchement artificiel	85
5.2.4	Effort de reproduction obtenu par filtration (en mg)	86
5.2.5	Relation entre le pr obtenu par filtration et le pr obtenu par comptage cellulaire	87
5.2.6	Estimation énergétique de l'effort de reproduction	89
5.2.7	Conclusion	89
5.3	Discussion	90
5.3.1	Critique de la méthode	90
5.3.2	Influence de la température sur la maturation et le déclenchement de la ponte	90
5.3.3	Estimation expérimentale de l'effort de reproduction	90
5.3.4	Conclusion	91
6.	CONCLUSION GENERALE	92

1. INTRODUCTION GENERALE

Au deuxième rang, en valeur, des productions aquacoles françaises, la perliculture présente un important intérêt économique pour le Territoire de la Polynésie Française. Afin de conforter ce secteur d'activité, un programme de recherche a été mis en place visant à mieux connaître l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*. Il s'agit du P.G.R.N. (Programme Général de Recherche sur la Nacre).

L'un des objectifs du P.G.R.N. est la construction d'un modèle de capacité trophique d'un écosystème lagunaire soumis à l'activité de perliculture. L'intérêt d'un tel modèle, reproduisant de façon simplifiée le fonctionnement de l'écosystème de la colonne d'eau, est de pouvoir estimer le stock optimal d'huîtres perlières à mettre en élevage au sein d'un lagon. L'atoll de Takapoto a été choisi comme site atelier pour l'établissement de ce modèle.

La construction d'un tel modèle implique un travail pluridisciplinaire de longue haleine et réside dans l'élaboration de plusieurs sous-modèles liés entre eux. L'un de ces sous-modèles est un modèle physiologique de croissance de l'huître perlière en élevage. Ce modèle se charge d'expliquer et de prédire la croissance de l'huître perlière en fonction des variations hydrobiologiques du milieu environnant. Etendu à l'ensemble des cheptels en élevage, il permettra d'en estimer les besoins nutritifs optimaux. Ce modèle de croissance repose sur l'étude des différentes fonctions physiologiques d'un bivalve, regroupées dans l'équation du bilan énergétique suivant, (LUCAS, 1992) :

$$C = PF + F + U + R + Pc + \mathbf{Pr} + Pg + \text{Pautres}$$

où C : consommation,

PF : production de pseudofécès,

F : production de fèces,

U : excrétion,

R : respiration,

Pc : production de coquille (dont nacre),

Pr : production de gamètes,

Pg : production somatique,

Pautres : autres productions (mucus, byssus...).

L'effort de reproduction (ER), estimé à partir de la production de gamètes (Pr) constitue l'une des composantes de ce bilan. Si la plupart des autres composantes sont relativement bien connues, aucun travail n'a encore été publié sur l'effort de reproduction de l'huître perlière.

Quelques éléments sont connus sur le cycle de reproduction de cette espèce. L'animal serait capable de se reproduire tout au long de l'année (pontes partielles et asynchrones), mais deux pics de ponte majeurs seraient observés à des périodes variables suivant les auteurs (TRANTER, 1958 ; THIELLEY, 1993 ; BUESTEL et al., 1995). L'objectif de cette étude est de mieux connaître le cycle de reproduction et de donner une première estimation de l'effort de reproduction de l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*.

Ce travail est articulé autour de 3 axes :

- un effort de synthèse bibliographique de l'état des connaissances sur la reproduction des bivalves, les méthodes d'estimation de l'effort de ponte chez les espèces aquacoles, les indicateurs classiquement étudiés en reproduction, ainsi que les facteurs environnementaux influençant la maturation et la ponte.

- un suivi *in situ* bimensuel de la maturation et de la croissance. L'objectif est d'étudier dans le temps la maturation et la croissance au moyen d'indicateurs biométriques, microscopiques, biochimiques et énergétiques, et éventuellement de mesurer un effort de reproduction *in situ*, si une ponte synchrone a lieu. Ce suivi porte sur trois classes d'âge.

- une expérience en laboratoire, visant à compléter le suivi *in situ* en permettant de calculer un premier effort de ponte en conditions contrôlées. Les mesures ont été réalisées sur des individus provenant des trois classes d'âge de l'étude *in situ*, et soumis à deux niveaux de température (26 et 31°C), afin de déceler une éventuelle action de ce facteur sur la maturation.

2. GENERALITES

2.1 L'ACTIVITE NACRIERE ET PERLIERE EN POLYNESIE FRANÇAISE

Les Polynésiens se sont toujours intéressés à l'huître perlière (ou nacre) qu'ils récoltaient pour les perles naturelles qu'elle produit quelquefois, mais également pour les valves utilisées en ornement. Dès le début du XIX^{ème} siècle, une exploitation commerciale s'est développée (notamment pour l'approvisionnement des boutonneries) qui a marqué le début d'une récolte et d'une exploitation massive.

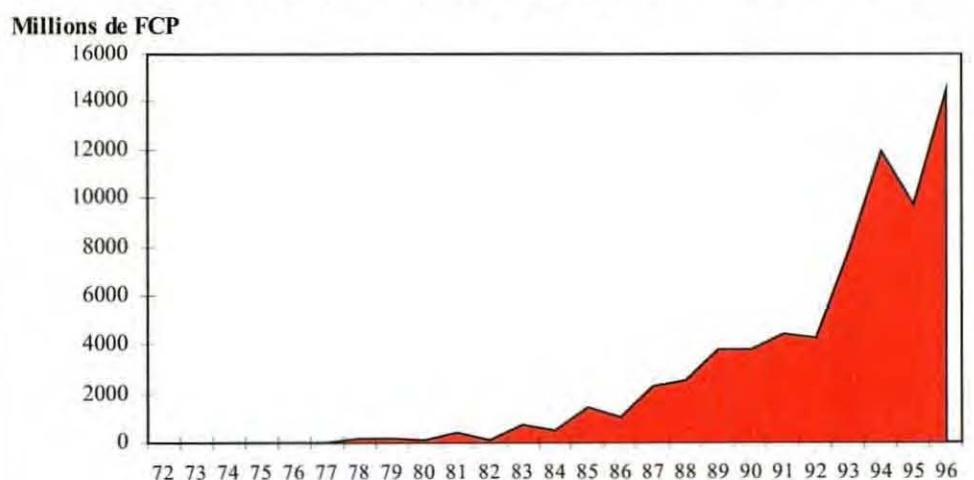
La perliculture a commencé à se mettre en place dans les années 1970, et de longs tâtonnements ont été nécessaires pour la mise au point des techniques de travail. D'ailleurs, il existe encore de nombreuses variantes suivant les fermes. Une perle nécessite quatre ans de travail. La méthode la plus utilisée suit les trois phases suivantes :

- La phase de collectage : Les huîtres sont captées dans le milieu sur des collecteurs, suspendus en pleine eau à des lignes de sub-surface, réunies en filière et maintenues entre 5 et 10 mètres de profondeur, grâce à des flotteurs.

- La phase d'élevage avant la greffe : Les huîtres collectées sont détachées à l'âge de 8 mois environ (6 cm de hauteur), et sont élevées jusqu'à l'âge d'un et demi à deux ans sur des filières. A ce stade, elles font environ 10 cm de hauteur et sont alors greffées.

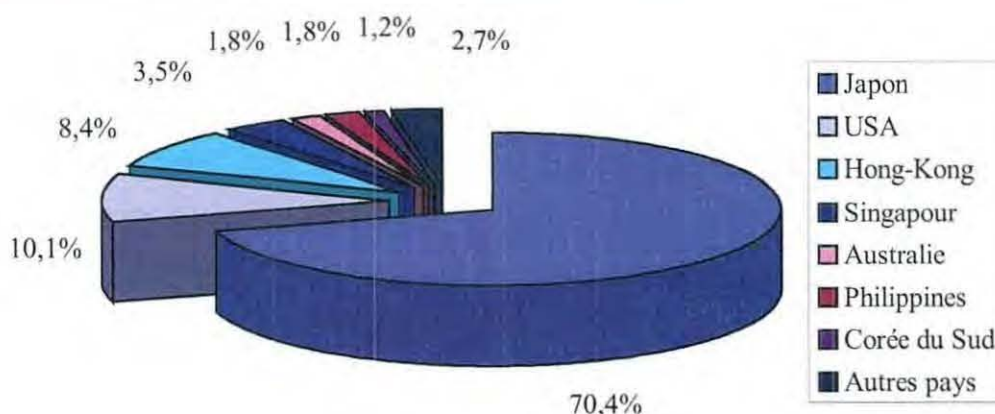
- La phase d'élevage après la greffe : Les huîtres greffées sont replacées en filière. La récolte des perles a lieu 18 mois après. L'huître est alors âgée de 3 à 4 ans. Des sur-greffes sont possibles et sont même de plus en plus fréquentes.

L'apparition de la perliculture devait modifier profondément les règles du marché, une demande locale en animaux vivants venant remplacer l'exportation des valves nacrées. Durant ces dernières années, la perliculture a pris un essor considérable, puisque la perle est actuellement au premier rang des exportations du Territoire et au deuxième rang (en valeur) des cultures marines en France après les huîtres et avant les moules (Figure 1 et 2).



Source : Service de la Mer et de l'Aquaculture - Bulletin du secteur de la mer 1995.

Figure 1 : Evolution annuelle des exportations de produits perliers depuis 1972.



Source : Service de la Mer et de l'Aquaculture - Bulletin de la mer 1995.

Figure 2 : Répartition en valeur des exportations de produits perliers par pays de destination.

Si les conditions d'élevage sont aujourd'hui relativement favorables, une mortalité massive a eu lieu entre 1985 et 1987, sans que l'on en connaisse véritablement les causes. Cet événement a entraîné la mise en place d'un Programme Général de Recherche sur la Nacre (PGRN), programme pluridisciplinaire faisant intervenir aussi bien les divers organismes scientifiques présents localement que des laboratoires de la métropole. La coordination administrative, logistique, technique et financière de ce programme de recherche est assurée par l'EVAAM (Etablissement pour la Valorisation des Activités Aquacoles et Maritimes).

Les objectifs de ce programme de recherche, qui comprend deux phases successives, étaient les suivants :

- la recherche des causes de mortalité dans les élevages de nacres,
- l'amélioration des connaissances sur la biologie de l'huître perlière,
- l'établissement de données fiables pour la gestion des lagons et de cette activité.

Les travaux de la première phase, qui a débuté en 1992, ont porté sur deux grands thèmes : la nacre et son milieu. L'atoll atelier choisi est Takapoto, en raison de la présence d'une antenne E.V.A.A.M. et des nombreuses connaissances déjà acquises sur cet atoll. Cette première phase s'est achevée en 1995, laissant place en 1996 à une seconde phase.

2.2 RAPPEL DES CONNAISSANCES SUR *Pinctada margaritifera*

2.2.1 SYSTEMATIQUE DE L'ESPECE *PINCTADA MARGARITIFERA*

Embranchement	: Mollusca
Classe	: Bivalvia
Ordre	: Pteriodia
Sous-famille	: Pteriacea
Famille	: Pteriidae
Genre	: <i>Pinctada</i>
Espèce	: <i>P. margaritifera</i> (Linné, 1758)
Variété	: <i>cumingii</i> (Jameson, 1901)

2.2.2 REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Pinctada margaritifera se rencontre dans l'écosystème corallien de l'Indo-Pacifique (Polynésie Française, Cook, Fidji, Nouvelle-Calédonie, Californie du Sud, Indonésie, Golfe Persique...) où elle est plus communément connue sous le nom de "d'huître perlière à lèvres noires".

Elle est surtout abondante en Polynésie Française, principalement dans les archipels des Tuamotu et des Gambiers, où elle est communément appelée "nacre".

P. margaritifera ne se rencontre pratiquement qu'à l'intérieur des lagons, de la surface jusqu'à 50 mètres de profondeur. Il est toutefois possible de trouver quelques spécimens sur la pente externe de l'océan (THIELLEY, 1993).

2.2.3 ORGANISATION INTERNE

2.2.3.1 *La coquille*

Elle est constituée de trois couches : le périostracum, l'ostracum ou couche prismatique et la couche de nacre. Le périostracum est une couche cornée composée d'une substance organique, la conchyoline. Les deux couches internes contiennent également de la conchyoline, dans laquelle baignent des cristaux de sels de calcium, essentiellement de la calcite pour l'ostracum et de l'aragonite pour la couche de nacre (Photo 1).



Photo 1 : Coquille de nacre. Hauteur extérieure d'environ 12 cm.

2.2.3.2 *Les parties charnues*

Dans les parties charnues de l'animal, nous pouvons distinguer à l'ouverture des deux valves :

- un manteau plaqué contre la coquille,
- des branchies filamenteuses et symétriques,

- un byssus, faisceau de filaments permettant à l'animal de s'accrocher au substrat.

Le manteau est un organe enveloppant la masse viscérale. Il joue un rôle fondamental pour la perliculture, puisque c'est lui qui sécrète la coquille et le cas échéant ses anomalies, les perles. Le bord externe du manteau est fortement pigmenté et apparaît noirâtre.

Les branchies sont observées sous la forme de croissants pigmentés, de structure filamenteuse. Elles servent à la respiration en milieu aquatique et à la capture des microparticules alimentaires.

Le byssus, sécrété par la glande byssogène, sert à la fixation au substrat.

L'élimination d'une valve et du manteau du même côté permet alors d'observer (Photo 2) :

- un muscle adducteur, volumineux, commandant l'ouverture et la fermeture des valves,
- un pied, organe fouisseur, parfois utilisé lors des déplacements sur les fonds sableux. Il est commandé par des muscles rétracteurs et des muscles élévateurs,
- des palpes labiaux, recevant les particules alimentaires par le courant d'origine branchiale. Ils en complètent le tri avant ingestion,
- un coeur, composé d'oreillettes de couleur sombre et d'un ventricule jaunâtre,
- une masse viscérale renfermant plusieurs organes : l'estomac, la glande digestive, l'appareil rénal, une partie de l'intestin et de la glande génitale,
- contre le bord convexe du muscle adducteur se situe le rectum, coloré en noir, aboutissant à l'anus, porté par le diverticule anal,
- enfin, entre le bord concave des branchies et le bord ventral du muscle adducteur se trouve la poche perlière, organe d'aspect translucide, de taille variable suivant les individus.



Photo 2 : Chair de nacre après dissection d'une partie du manteau.

2.2.4 PHYSIOLOGIE ET BIOENERGETIQUE DE L'ESPECE

2.2.4.1 *Filtration*

Le volume d'eau épuré de ces particules, communément appelé taux de filtration (CR) est fonction du poids de l'animal (W) selon l'équation suivante :

$$CR = a W^b$$

avec :

- b : coefficient allométrique proche de 0.6 (POUVREAU & JONQUIERES, comm. pers)
- a : coefficient de proportionnalité, pouvant varier de 18 à 27 suivant les conditions du milieu (POUVREAU, comm. pers.)
- CR en l/h
- W en g

Ainsi une huître perlière de 1 g de poids de chair sèche peut filtrer jusqu'à 27 l/h. De telles valeurs, les plus élevées de la littérature, semble constituer une adaptation à l'oligotrophie des eaux des lagons : l'animal compense la pauvreté apparente du milieu par une activité de filtration permanente et élevée.

2.2.4.2 *Biodéposition et absorption*

Bien que la charge particulaire soit faible dans les milieux de vie de l'huître perlière, cette dernière produit pratiquement sans cesse des pseudofèces (particules retenues par les branchies, mais rejetées avant même d'être ingérées). Il a été montré que ces pseudofèces sont généralement pauvre en matière organique et résultent d'un tri sélectif de la part de l'animal (BUESTEL & POUVREAU, comm. pers.). Ces résultats sont en cours de confirmation.

Une fois ingérées, les particules suivent le tractus digestif. Une partie est rejetée (les fèces), le reste étant absorbé. Dans le milieu naturel, l'absorption de la matière organique est proche de 75 %.

2.2.4.3 *Excrétion*

Une fois absorbée, une partie des nutriments n'est pas métabolisée, et est perdue pour l'animal, se retrouvant dans les urines. Une estimation de l'excrétion azotée, U, a montré que le produit majoritairement excrété est de l'azote ammoniacal : l'huître perlière est un bivalve ammoniotélique. Le niveau d'azote excrété (U) dépend du poids de l'animal (W), selon l'équation suivante (POUVREAU, comm. pers.):

$$U = 1.64 W^{0.78}$$

avec :

- U en $\mu\text{mol N-NH}_3,4/\text{h}$
- W en g.

2.2.4.4 *Respiration*

Une partie de l'énergie assimilée est catabolisée en libérant de l'énergie selon le processus de la respiration. Cette énergie libérée peut être estimée indirectement en mesurant la consommation d'oxygène de l'animal. La respiration (R) est elle aussi fonction du poids de chair sèche selon l'équation suivante (ROBERT, comm.pers.) :

$$R = 0.87W^{0.67}$$

avec :

- R en mg d'O₂/h
- W en g

2.2.4.5 Productions

La différence entre l'énergie assimilée, et l'énergie perdue par respiration permet d'estimer l'énergie restant disponible pour la croissance des tissus (Pg), pour les émissions de gamètes (Pr), ainsi que pour la croissance en nacre (Ps) (coquille et perle). Ainsi chez des huîtres perlières âgées d'environ d'un an et demi, le bilan mensuel moyen des différentes productions est le suivant (Pouvreau, comm. pers.):

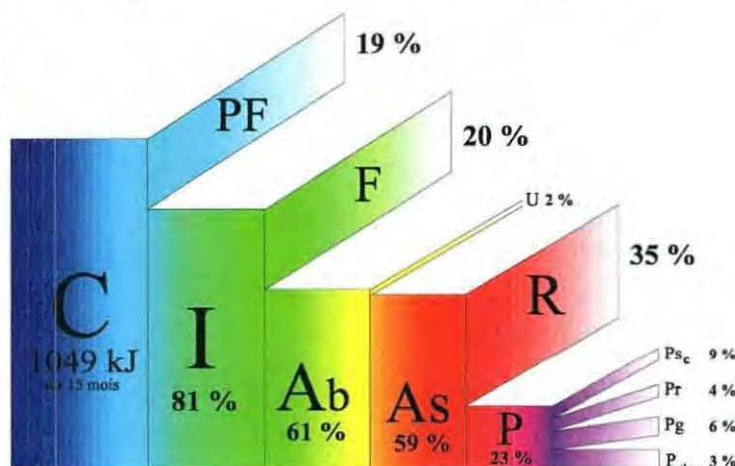
- Pg ~ 4 kJ/mois
- Pr ~ 3 kJ/mois
- Ps ~ 7 kJ/mois

Ce bilan met en évidence l'importance du coût énergétique de la production de coquille. C'est un constat très fréquent chez les mollusques tropicaux, dont les coquilles sont généralement épaisses et ornementées.

2.2.4.6 Bilan énergétique

L'ensemble des résultats acquis par l'IFREMER-COP sur la physiologie et la bioénergétique permet d'établir le bilan énergétique réalisé par une huître perlière d'environ deux ans et établies *in situ* (lagon de Takapoto) pour la période de Juin 1990 à Septembre 1991 :

Figure 3 : Bilan énergétique de *Pinctada margaritifera* de 1990 à 1991.



2.3 DESCRIPTION DE L'ATOLL DE TAKAPOTO

Depuis sa sélection en 1974 comme site de recherche du programme MAB (Man and Biosphere) de l'UNESCO, l'atoll de Takapoto a fait l'objet de nombreuses études dans de nombreux domaines. C'est un des atolls les mieux connus de l'archipel des Tuamotu.

Une synthèse des connaissances a été réalisée par BUESTEL et POUVREAU (*in. prep.*, 1997).

2.3.1 SITUATION GEOGRAPHIQUE ET GEOMORPHOLOGIE DE L'ATOLL

L'atoll de Takapoto est situé dans la partie nord-ouest de l'archipel des Tuamotu, par 14°30' de latitude sud et 145°20' de longitude ouest, à environ 500 km au nord-est de Tahiti.

Avec son très proche voisin, l'atoll de Takaroa, Takapoto fait partie des 84 atolls de Polynésie française, dont 77 se trouvent dans les Tuamotu.

Allongé selon un axe SW-NE, cet atoll est de forme elliptique. La partie émergée de la couronne récifale entoure un lagon de 18,7 km de longueur et 4,4 km de largeur, soit une surface d'environ 81,7 km². Ces caractéristiques le placent au 35^{ème} rang des atolls pour la superficie et lui confèrent une taille moyenne.

La couronne récifale, dont la largeur moyenne est de 350 m, est entièrement constituée de matériaux d'origine biologique. Ne possédant pas de passe, l'atoll est fermé. La couronne récifale est parfois interrompue par des chenaux peu profonds ou *hoa* (CHEVALIER et al., 1979).

Le lagon a une profondeur moyenne de 23 mètres (SOURNIA et RICARD, 1976). Il est plus profond dans la moitié NW avec une profondeur maximale de 55 mètres. Par planimétrie, SOURNIA et RICARD (1976) montrent que 15% de la superficie est comprise entre 0 et 10 mètres, 28% entre 10 et 20 mètres et 27% au-delà de 30 mètres. De tels résultats permettent d'estimer le volume lagonaire à environ 1,3 km³. CHEVALIER et al. (1979) avancent un chiffre de 1,7 km³.

A la surface du lagon apparaissent de nombreuses constructions coralliennes, les pinacles, en plus grand nombre dans la partie SW de l'atoll.

2.3.2 ENVIRONNEMENT CLIMATIQUE DE L'ATOLL

L'atoll voisin, Takaroa, possède une station météorologique depuis 1957 qui permet de connaître les principales caractéristiques de cette région.

La température de l'air varie en moyenne de 24 à 32°C.

Les vents dominants sont les alizés d'est à nord-est (avec une fréquence de 70%), et ceux du sud-est dans 20% des cas. Généralement, les alizés soufflent entre 5 et 20 noeuds. En été austral, les vents d'ouest peuvent souffler occasionnellement assez fort.

Calculée sur une période de 20 ans, la moyenne annuelle des précipitations est de 150 cm pour une évaporation de 200 cm, ce qui engendre un déficit annuel de 50 cm (SOURNIA et RICARD, 1976). La période des pluies correspond à l'été austral avec un maximum de précipitations en janvier.

2.3.3 L'HYDRODYNAMISME LAGONAIRE

2.3.3.1 *Echanges d'eau par les hoas*

Les flux d'eau échangés au travers des hoas sont peu ou pas connus. Dans la région de Teavatika, flanc SE de l'atoll, quelques hoas fonctionnels permettent des échanges d'eau quotidiens entre l'océan et le lagon. Sur ce côté de l'atoll, RENON (1977) dénombre 25 hoas, dont 20 fonctionnels. SOURNIA et RICARD (1976) estiment de façon très approximative que cet ensemble de hoas apporterait 0,3 km³ d'eau par an, dans le lagon. Dans la région de Takaï, flanc NW de l'atoll, un large *hoa* semble fonctionner de temps à autre. Les apports d'eau de cette zone sont cependant négligeables (SOURNIA et RICARD, 1976, et RENON, 1977).

En considérant une entrée d'eau de 0,3 km³ par an, SOURNIA et RICARD (1976) estiment à 4 ans le temps de résidence (temps moyen de séjour d'une masse d'eau venue de l'extérieur) et à 17 ans le temps de renouvellement quasi-total (99%) du lagon. Ces résultats

rejoignent ceux de MAGNIER et WAUTHY (1976). La faible fonctionnalité de ses hoas renforce le caractère fermé de l'atoll de Takapoto.

2.3.3.2 Echanges d'eau à travers la couronne récifale

L'évaporation étant supérieure aux précipitations, le lagon de Takapoto devrait progressivement devenir de plus en plus salé. Or, bien qu'il soit plus salé que l'océan environnant, le lagon n'en est pas pour autant une « mer morte ». Afin d'expliquer ce paradoxe, ROUGERIE (1979 et 1995) propose un schéma de circulation d'eau dans le socle corallien poreux par thermo-convection (phénomène « d'endo-upwelling »). Le sel serait évacué du lagon vers l'océan par percolation et inversement, il y aurait des apports de nutriments de l'océan dans le lagon, ce qui permettrait d'y entretenir une production primaire plus importante que dans l'océan. Cependant, les flux d'eau interstitielle au travers des structures poreuses de la couronne n'ont pas été quantifiées à Takapoto. Cette eau interstitielle proviendrait des couches plus profondes de l'océan constituées par l'eau antarctique intermédiaire froide et riche en nutriments et remonterait suivant le gradient thermique.

2.3.3.3 Echanges d'eau au sein du lagon

Parce que les arrivées d'eau par les hoas et à travers la couronne récifale sont négligeables, seul le vent peut être à l'origine d'une dynamique lagonaire à Takapoto. ROUGERIE (1979) met en évidence une circulation interne due au vent.

2.3.4 ECOSYSTEME LAGONAIRE

2.3.4.1 Salinité, température

MAGNIER et WAUTHY (1976) observent, en décembre 1994, une température moyenne de 27,8°C et une salinité moyenne de 39,5‰ et constatent l'existence de gradient de salinité et température au sein du lagon. Cette stratification n'est plus présente lors de leurs observations ultérieures (août et novembre 1975). Dans chaque cas, ils relient leurs résultats à des observations météorologiques (vent et précipitations), et insistent sur le caractère déterminant de ces derniers.

ROUGERIE (1979) constate un cycle annuel de la température de l'eau du lagon avec un minimum en août à 26,5°C et un maximum en mars-avril à 30°C. Sur deux années d'observation, il mesure des variations de la salinité entre 37,6‰ et 41,2‰ qu'il relie aux conditions météorologiques locales et aux entrées d'eau par les hoas.

2.3.4.2 Oxygène dissous

Les mesures d'oxygène (ROUGERIE, 1979) montrent une parfaite oxygénation de l'ensemble du lagon : de 5,7 à 7,0 ml/l en surface et jamais inférieur à 4,8 ml/l en profondeur. Une telle homogénéité implique l'existence de processus de mélange.

2.3.4.3 Sels nutritifs

En août 1975, SOURNIA et RICARD mettent en évidence l'oligotrophie extrême des eaux du lagon, où les concentrations en phosphate (0,12 µmol/l), en nitrate (0,22 µmol/l), en nitrite (0,10 µmol/l) et en silicate (0,28 µmol/l) sont deux à trois fois inférieures à celles de l'océan environnant.

2.3.4.4 Matière particulaire en suspension

Aucun suivi spatio-temporel de la M.E.S. n'a été effectué dans le lagon de Takapoto. Seules quelques données ponctuelles sont disponibles. En août 75, SOURNIA et RICARD (1976) mesurent des teneurs d'environ 0,32 mg/l sur un ensemble de 11 stations. De façon générale, cette M.E.S. regroupe les bactéries, le phytoplancton (cyanobactéries et microalgues), le zooplancton, ainsi que la matière détritique.

Les cyanobactéries présentes dans la colonne d'eau à Takapoto sont des *Synechococcus* et des *Prochlorococcus*. CHARPY et al. (1992) mesurent, en juin 1991, une concentration de *Synechococcus* variant de 54 000 à 191 000 cellules par ml. Des mesures récentes donnent une abondance en *Prochlorococcus* variant entre 10 000 et 50 000 cellules par ml (CHARPY et BLANCHOT, 1996).

L'abondance en micro-algues, beaucoup plus faible, est d'environ 4 000 cellules par ml (CHARPY et al., 1992). Mais cette concentration semble très variable, SOURNIA et RICARD (1976) donnent un intervalle de variation de 2 à 2 000 cellules par ml.

La concentration en chlorophylle a reflète la biomasse phytoplanctonique. CHARPY et al. (1992) trouvent une valeur moyenne de 0,31 µg/l en juin 1991, ce qui est proche du résultat de 0,46 µg/l trouvé en août 1975 par SOURNIA et RICARD (1976).

A l'heure actuelle, aucun travail n'a été publié sur l'abondance des bactéries à Takapoto. Des observations récentes montrent qu'elles occupent une place importante en nombre, avec 1,2 millions de cellules par ml, mais qu'elles ne représentent qu'une faible biomasse et surtout une faible production, environ 10% de la production phytoplanctonique (TORRETON et DUFOUR, comm.pers.). En revanche, les bactéries doivent jouer un rôle important dans la reminéralisation de la matière organique, permettant l'entretien de la production phytoplanctonique.

Le zooplancton a été étudié par RENON (1977). La biomasse moyenne est de 47 à 61 mg/m³. Cette biomasse varie en fonction du rythme nyctéméral et la profondeur. Elle est composée pour l'holoplancton de copépodes, d'appendiculaires, d'amphipodes, et de chaetognates, et pour le mésoplancton de larves de poissons, de gastéropodes et de lamellibranches.

2.3.4.5 Les organismes benthiques

Les coraux sont peu abondants dans le lagon, aussi bien en nombre d'espèces qu'en nombre de colonies. Ceci témoigne du très faible hydrodynamisme des eaux du lagon.

Les macro-algues sont surtout représentées par *Caulerpa urvilliana* et le micro-phytobenthos par les foraminifères.

Les mollusques sont représentés essentiellement par les bivalves qui sont très abondants, comme pour la plupart des atolls fermés. Il existe 93 espèces de mollusques dans le lagon, mais quelques espèces sont largement dominantes : bénitiers (*tridacna maxima*), petites huîtres perlières dites « pipi » (*Pinctada maculata*), arches (*Arca ventricosa*), chames (*Chama iostoma*) et huîtres perlières (*Pinctada margaritifera*) (SALVAT et RICHARD, 1985 ; RICHARD, 1987).

2.3.4.6 Les poissons

Le confinement des eaux du lagon entraîne une pauvreté relative en poisson. Cependant, avec 170 espèces, le lagon de Takapoto est plus riche que d'autres atolls fermés

(SALVAT et RICHARD, 1985). Les trois familles les plus représentées en terme de nombre d'espèces sont les labridés, les chaetodontidés, et les scaridés.

3. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA REPRODUCTION DES BIVALVES

3.1 INTRODUCTION

Cette synthèse bibliographique présente plusieurs objectifs. Tout d'abord, il s'agit d'établir un bilan de l'état des connaissances sur la reproduction des bivalves et notamment sur l'huître perlière *Pinctada margaritifera*. Dans un second temps, il apparaît indispensable pour notre étude de répertorier les différentes méthodes déjà utilisées pour quantifier l'effort de ponte. De la même façon, un répertoire des différents indicateurs étudiés classiquement en reproduction est nécessaire. Dans les deux cas, l'objectif est d'utiliser les méthodes d'étude les plus adaptées à l'huître perlière *Pinctada margaritifera* ainsi qu'aux moyens mis à notre disposition. Enfin, une synthèse des facteurs influençant la maturation puis déclenchant la ponte nous permettra de diriger nos expériences en laboratoire.

3.2 SEXUALITÉ

L'objectif du Tableau 1 est de replacer *P.margaritifera* par rapport à d'autres espèces de bivalves.

<i>Espèce</i>	<i>Nom vernaculaire</i>	<i>Sexualité</i>	<i>Auteur</i>
<i>Crassostrea gigas, virginica</i>	Huître creuse	hermaphrodisme, protandrie marquée.	MANN, 1979
<i>Ostrea edulis</i>	Huître plate	hermaphrodisme consécutif, protandrie marquée.	MANN, 1979
<i>Pinctada margaritifera, fucata, albina, maculata</i>	Huîtres perlières	hermaphrodisme protandre.	TRANter, 1958, 1957 THIELLEY, 1993
<i>Pecten maximus</i>	Coquille St-Jacques	hermaphrodisme simultané.	DORANGE, 1989
<i>Argopecten circularis</i>	Peigne Catarina	hermaphrodisme généralement protandre.	FELIX-PICO ET AL., 1995
<i>Mytilus edulis</i>	Moule commune	gonochorisme, rares cas d'hermaphrodisme simultané.	BAYNE, 1976
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Moule de Méditerranée	gonochorisme.	BAYNE, 1976
<i>Aulacomya ater</i>	Moule du Chili	gonochorisme.	JARAMILLO ET AL., 1995
<i>Paphies subtriangulata australis</i>	Palourde Tuatua Palourde Pipi	gonochorisme.	GRANT ET AL., 1995 HOOKER ET AL., 1995
<i>Ruditapes philippinarum</i>	Palourde japonaise	gonochorisme, hermaphrodisme juvénile temporaire.	ROBERT, 1993

Tableau 1 : Sexualité de quelques espèces de bivalves.

Si les sexes sont généralement séparés chez les mollusques, on observe, cependant, plusieurs cas d'hermaphrodisme, notamment chez les Pectinidae et Ostreidae. L'huître perlière *Pinctada margaritifera* est hermaphrodite protandre, ce qui signifie que les individus sont d'abord mâles puis femelles, à l'inverse d'autres espèces (Ostreidae), où la protandrie n'est pas exclusive. Les travaux de TRANTER (1958) sur *P.margaritifera* ne nous permettent pas de connaître l'âge auquel se produit l'inversion sexuelle, mais nous savons que le nombre de femelles augmente avec l'âge (TRANTER, 1958a). A environ deux ans, TRANTER (1958) dénombre approximativement 70 % de mâles pour 30 % de femelles. Ce ratio décroît avec le temps jusqu'à des proportions à peu près égales. Le changement de sexe est supposé rapide (TRANTER, 1958) et sous diverses conditions un retour à l'état mâle est possible en cours de cycle. Certains auteurs ayant étudié cette espèce ont constaté que le nombre de mâles par rapport aux femelles est très variable selon les lieux (THIELLEY, 1993). Il semblerait qu'après la différenciation, le sexe évolue en fonction des conditions extérieures de nutrition et de température (RANSON, 1952). Les lignées mâles prédomineraient lorsque l'huître est dans de mauvaises conditions de nutrition ou en milieu confiné. De bonnes conditions environnementales, et notamment une nourriture abondante, favoriseraient l'apparition des femelles (THIELLEY, 1993). Cependant, THIELLEY (1993) a pu constater que d'autres facteurs pouvaient intervenir sur les changements de sexe. En effet, on observe un pourcentage de femelles beaucoup plus important chez des nacres provenant d'une population naturelle par rapport à des nacres d'élevage, dont les dimensions et les conditions de milieu sont pourtant identiques. Une étude comparative entre des bivalves du milieu naturel et d'autres de la même espèce placés en élevage a été menée par DOLGOV (1992) qui a constaté que le nombre de mâles augmente lorsque les individus sont suspendus en culture. De la même façon, MILLOUS (1976), dans son étude du sex-ratio de *P.margaritifera*, remarque que le fait de manipuler les nacres semble faire augmenter la proportion de mâles. Dans une étude sur les inversions sexuelles de *P.margaritifera*, DOLGOV (1991), a également remarqué que des cas de retour à l'état mâle étaient observés à la suite d'une pollution par les hydrocarbures.

3.3 CYCLE DE REPRODUCTION ET AGE A LA PREMIERE MATURITE SEXUELLE

3.3.1 CYCLE DE REPRODUCTION DES BIVALVES

Le cycle de reproduction de *Pinctada margaritifera* est incomplètement connu, mais on peut utilement s'appuyer sur la connaissance des cycles d'autres bivalves largement étudiés. Chaque cycle a été établi dans un lieu géographique précis donc à une latitude précise, faisant référence à un climat déterminé. Une classification des cycles de reproduction en fonction de ces données (géographique et climatique) est possible (Tableau 2).

Espèce	Zone climatique et latitude	Cycle annuel de reproduction	Auteur
<i>Crassostrea virginica</i> (Huître)	Zone subtropicale humide, 38-39 °N Zone subtropicale humide, 40-45 °N	1 ponte dès juin. 1 ponte en août-septembre. Synchronisme des pontes.	KENNEDY ET AL., 1982 BROUSSEAU, 1995
<i>Ostrea virginica</i> (Huître)	Zone subtropicale humide, 40-45 °N	1 ponte/an en sept-nov. Fort synchronisme.	LOOSANOFF, 1942
<i>Crassostrea madrasensis</i> (Huître)	Zone équatoriale humide, 13 °N	2 pontes/an, une de mi-avril à juin, une en octo-nov. Synchronisme.	STEPHEN, 1980
<i>Pinctada margaritifera</i> (Huître perlière)	Zone équatoriale humide, 10 °S Zone équatoriale humide, 15 °S Zone équatoriale humide, 15 °S	2 pontes majeures, une en janv-fév, une en juillet. 2 pontes majeures, une en déc-janv, une en sept-octobre. 2 pontes majeures, une en février-mars, une en septembre-octobre. Dans les trois cas, pontes partielles et asynchrones toute l'année.	TRANter, 1958 THIELLEY, 1993 BUESTEL ET AL., 1995
<i>Pinctada fucata</i> (Huître perlière)	Zone aride, 25 °S	2 pontes/an, une mineure en janv-fev, une majeure en avril-mai.	TRANter, 1958
<i>Pinctada mazatlanica</i> (Huître perlière)	Zone tropicale, climat de savane, 10 °N	Pontes partielles toute l'année avec 2 pics en janv/mars et juin/juillet. Fort asynchronisme.	GARCIA-DOMINGUEZ, 1996
<i>Pinctada albina</i> (Huître perlière)	Zone équatoriale humide, 10 °S	Pontes partielles toute l'année mais 1 pic début hiver austral (avril-mai). Fort asynchronisme.	TRANter, 1958
<i>Paphies subtriangulata</i> (Palourde)	Zone tempérée humide, 35-40 °S	2 pontes/an, une en fév-avril, une en sept-nov. Fort synchronisme.	GRANT ET AL., 1995
<i>Paphies australis</i> (Palourde)	Zone tempérée humide, 35-40 °N	2 pontes/an, une de août à octobre, une en nov-déc. Fort synchronisme.	HOOKEr ET AL., 1995
<i>Pecten maximus</i> (Peigne)	Zone méditerranéenne, 40 °N Zone tempérée humide, 48 °N	2 pontes/an, une en mai-juin, une en octobre. Généralement 2 pontes/an, 3 possibles de mai à sept-oct. Fort asynchronisme.	ROMAN ET AL., 1995 LUBET ET AL., 1995
<i>Argopecten circularis</i> (Peigne)	Zone tropicale, climat de savane, 26-28 °N	Pontes toute l'année mais 2 majeures, 1 totale en mars-avril-mai, 1 partielle en juillet-août. Fort asynchronisme.	FELIX-PICO ET AL., 1995
<i>Placopecten magellanicus</i> (Peigne)	Zone continentale, 41-42 °N	2 pontes/an, 1 totale et synchrone en sept-oct et 1 plus irrégulière en mai-juin. Asynchronisme.	DIBACCO ET AL., 1995
<i>Aulacomya ater</i> (Moule)	Zone tempérée humide, 42-44 °N	Pontes toute l'année mais 2 pics/an, en juillet et dec-janv. Asynchronisme.	JARAMILLO ET AL., 1995
<i>Mytilus edulis</i> (Moule)	Variable	1 ou plusieurs pontes/an, très variable suivant endroits. Asynchronisme.	BAYNE, 1976

Tableau 2 : Caractérisation du cycle annuel de reproduction de quelques espèces de bivalves.

Le tableau n°2 montre qu'il n'existe aucune règle stricte en matière de cycle de reproduction chez les bivalves. En effet, il est impossible de définir un cycle type, même à l'intérieur d'un genre. Généralement, on compte une à deux pontes par année. A ces périodes s'ajoutent éventuellement des pontes partielles (le contenu gonadique n'est pas totalement expulsé au cours d'une même ponte) tout au long de l'année comme c'est le cas pour *Pinctada margaritifera*, caractérisée de surcroît par un fort asynchronisme de ses pontes (les individus ne pondent pas forcément tous au même moment).

Le cycle de reproduction est fortement influencé par le climat et la latitude. Une espèce peut donc montrer des cycles différents en fonction de ces facteurs. Ce phénomène s'observe chez *Pinctada margaritifera*, mais aussi chez *Pecten maximus*, présentant 2 ou 3 pontes/an suivant la position géographique : ROMAN ET AL. (1995) observent 2 pontes/an lors d'études réalisées en Espagne, contre 3 pontes/an décelées en rade de Brest par LUBET ET AL. (1995). En zone tempérée, la plupart des bivalves marins ont un cycle de reproduction annuel, avec des périodes de gamétogenèse et de ponte bien précises. En zone tropicale, les hautes températures permanentes permettent une maturation tout au long de l'année et donc une reproduction continue (THIELLEY, 1993).

Enfin, le cycle de reproduction d'une espèce semble assez variable d'une année sur l'autre, notamment en raison de facteurs du milieu. Les pontes peuvent donc être décalées dans le temps, comme HOOKER ET AL. (1995) l'ont observé chez *Paphies australis*. L'expérience menée en 1991 montre deux périodes de ponte, une en septembre-octobre et une en novembre-décembre, alors que celle menée en 1992 présente une première période de ponte plus précoce, dès août, tandis que la seconde reste identique.

Chez *Pinctada margaritifera*, on obtient des cycles de reproduction différents suivant que l'étude a été réalisée en Australie (TRANter, 1958) ou en Polynésie Française (THIELLEY, 1993 ; BUESTEL ET AL., 1995). On observe bien des pontes tout au long de l'année mais les deux pics sont légèrement décalés dans le temps. THIELLEY (1993) explique ces différences par une température estivale plus élevée en Polynésie Française, température qui inhiberait le développement des gonades. Les pontes estivales seraient donc plus précoces en Polynésie Française. Cependant, les résultats de THIELLEY (1993) sur le cycle de reproduction ne correspondent pas tout à fait à ceux obtenus par BUESTEL ET AL. (1995). RANSON (1961) émet des hypothèses radicalement différentes et affirme que les glandes génitales de *P. margaritifera* ne sont pas fonctionnelles pendant l'hiver austral et que la reproduction se fait uniquement d'octobre à février.

3.3.2 AGE A LA PREMIERE MATURITE SEXUELLE

En Australie, TRANter (1958) identifie l'âge à la première maturité de l'espèce *Pinctada margaritifera* à sa deuxième année d'existence, au cours de la première ou de la deuxième saison de reproduction, bien que certains individus commencent à maturer dès la fin de leur première année. *Pinctada margaritifera* est une espèce dont la sexualité se manifeste tardivement par rapport à d'autres espèces du genre *Pinctada*. Ainsi, *Pinctada fucata* et *Pinctada albina* sont matures sexuellement dès l'âge de 6 mois (TRANter, 1958). Cependant, THIELLEY (1993) estime l'âge de première maturité de *Pinctada margaritifera* à 6 mois, sur des animaux élevés en Polynésie.

3.4 ESTIMATION DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

3.4.1 DEFINITION DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

Pour la plupart des auteurs, l'appellation *effort de reproduction*, noté ER, désigne la part d'énergie allouée à la reproduction dans un bilan énergétique. Il s'agit de l'énergie perdue lors de l'émission des gamètes et des produits qui l'accompagnent. La production de gamètes est notée Pr.

Mais pour exprimer cet effort de reproduction, il existe une importante diversité de formulations. WILLIAMS (1966) donne la première définition où le coût de la reproduction est évalué selon la conception éthologique, c'est-à-dire au moyen d'un bilan équilibrant gains et pertes de matière-énergie entre l'organisme et son environnement. Plus tard, HIRSHFIELD ET TINKLE (1975) ont donné à l'expression une définition métabolique : proportion du bilan énergétique d'un organisme utilisée pour la reproduction.

L'effort de reproduction peut finalement être exprimé par différents rapports intégrant la production de gamètes, Pr. Les différences sont dues, d'une part, aux contraintes imposées par l'anatomie de l'animal, d'autre part, au but poursuivi : soit un bilan global, soit une étude fine de la bioénergétique d'une émission. Voici quelques exemples de rapports possibles :

(1) $ER = Pr / (As - R)$ où As représente l'assimilation et R la respiration. Ce ratio équivaut à $ER = Pr / P$ où P représente la production totale (LUCAS, 1992).

(2) $ER = Pr / B$ où B représente la biomasse de l'animal (LUCAS, 1992).

(3) $ER = Pr / As$, (LUCAS, 1992).

(4) $ER = Pr / (Pg + Pr)$ où Pg représente la production somatique. Cette expression a été utilisée par THOMPSON (1984). C'est le rapport le plus utilisé actuellement. Il est à rapprocher du ratio (1) où le terme P est représenté par Pg+Pr, car la production de coquille est souvent négligée.

D'autres indices, souvent plus complexes, ont été définis pour exprimer l'effort de reproduction. Un premier a été donné par CALOW (1979), qui propose un index d'évaluation du coût de la reproduction (traduit de l'anglais « reproductive cost »). Il inclut non seulement l'énergie dépensée pour la production mais également l'énergie dépensée au travers de la respiration. Il associe donc à une production somatique, une « respiration somatique » à savoir la respiration due au métabolisme des tissus somatiques. Il en est de même pour la production gonadique. Il obtient une expression du type :

(5) **Coût de la reproduction** = $1 - [(As - Pr) / Rs]$ où Rs représente cette respiration somatique.

Cette expression a ensuite été modifiée afin d'y incorporer l'énergie demandée par la « respiration gonadique » :

(6) **Coût de la reproduction** = $1 - [(As - (Pr + Rg)) / Rs]$ où Rg représente la respiration gonadique.

Un second indice consiste à évaluer un RRV ou « Residual Reproductive Value » qui correspond à un potentiel de reproduction futur pour un organisme d'âge x . Cette définition a été proposée en 1966 par WILLIAMS. Il s'agit de déterminer un effort de reproduction pour la vie entière d'un individu. Cette expression peut être appliquée dans le cas d'une population.

(7) $RRV = \sum_{t=x+1}^w (l_t / l_x) Pr$ où l_t / l_x représente la probabilité de survie de l'individu de l'âge x à l'âge t et w , l'âge de l'individu à la dernière reproduction.

Ces deux dernières expressions intègrent, elles aussi, la production de gamètes, Pr .

Peu d'études proposent une méthode de quantification de l'effort de reproduction. L'objet du paragraphe suivant est de répertorier les différentes méthodes qui ont déjà été utilisées sur les bivalves afin de pouvoir en appliquer une à notre étude.

3.4.2 METHODE DE DETERMINATION DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

D'après LUCAS (1992), la valeur de Pr est le plus souvent estimée selon des méthodes écologiques. Le principe est le suivant : sur des individus d'une population naturelle ou d'élevage, on procède à deux prélèvements, l'un avant la reproduction, l'autre après. Pour que la différence entre les deux prélèvements puisse permettre d'évaluer Pr , il faut absolument que, dans la population considérée, l'émission des gamètes soit synchrone. Si ce n'est pas le cas, s'il y a une forte variabilité individuelle dans le déroulement de l'activité reproductrice, cette méthode ne peut pas être appliquée.

Lorsque les émissions sont synchrones, il y a pour l'évaluation de Pr deux cas distincts selon les espèces. Certaines ont des gonades bien définies séparables du reste des organes, qui peuvent être pesées à part. Leur différence de masse avant et après émission permet d'établir la valeur de Pr . D'autres ont des gonades non séparables des autres organes. Dans ce cas, on pèse l'ensemble des tissus et on fait l'hypothèse qu'avant et après l'émission des gamètes, la masse des autres tissus est restée constante. La différence de masse avant et après l'émission représente alors la masse des produits de reproduction qui ont été émis.

Pour être sûr des prélèvements, il est nécessaire de bien connaître le cycle de reproduction de l'espèce étudiée et il est essentiel d'augmenter la fréquence des mesures au moment où la ponte est supposée.

De cette façon, BAYNE (1976) pour *Mytilus edulis* et BACHER (1989) pour *Crassostrea gigas* utilisent une fonction allométrique du poids sec de chair pour quantifier l'effort de ponte. La perte de poids consécutive à l'émission des gamètes permet de quantifier l'effort consacré à la reproduction moyennant une estimation énergétique des produits génitaux. Cette estimation énergétique peut être réalisée de deux façons :

- Directement, en brûlant une certaine quantité de tissu dans une bombe calorimétrique. La calorimétrie permet de mesurer l'énergie contenue par la chair ainsi que différents organes, notamment la gonade ou les produits génitaux s'il est possible d'en prélever un échantillon suffisant.

- Indirectement, en réalisant une analyse quantitative des constituants biochimiques (protéines/lipides/glucides) de la gonade ou des produits génitaux qui sont ensuite convertis en équivalent calorie par l'utilisation des coefficients de BRODY (1945). Ces coefficients sont de 23,65 J/mg pour les protéines, 39,56 J/mg pour les lipides et 17,16 J/mg pour les glucides.

Par cette méthode des dosages biochimiques, la valeur énergétique des gonades femelles de *Crassostrea virginica* a été estimée à 25,67 J/mg de chair sèche et à 23,72 J/mg de chair sèche celle des gonades mâles (HERAL ET DESLOUS-PAOLI, 1983). De façon identique, la valeur énergétique du sperme de *Macoma balthica* a été estimée à 18,96 J/mg de matière sèche sans cendres et à 23,71 J/mg celle des ovules (HERAL ET DESLOUS-PAOLI, 1983). Les deux méthodes donnent rarement des résultats similaires. Sur *Crassostrea gigas*, où les deux méthodes ont été utilisées simultanément, l'estimation biochimique est inférieure de 30% à l'estimation directe (HERAL ET DESLOUS-PAOLI, 1983). Chez cette huître, l'effort de reproduction varie de 17,8 à 55,9% du poids sec pour les mâles et de 43,1 à 61,9% pour les femelles pour respectivement leur première et troisième année de reproduction (DESLOUS-PAOLI ET AL., 1986 ET 1988). L'effort de reproduction de *Crassostrea gigas* augmente avec l'âge, il est responsable d'une perte d'énergie de 18% chez les huîtres âgées de 1 an, et de 63% chez les huîtres de 2 ans (HERAL ET DESLOUS-PAOLI, 1983).

3.4.3 CONCLUSION - EXEMPLES DE VALEURS D'EFFORT DE PONTE

L'estimation de l'effort de reproduction a fait l'objet de nombreuses définitions. Cependant, partout, ER est lié à Pr, la production de gamètes. Il est alors facile de calculer ER à partir de différents ratios qui sont tous plus ou moins équivalents.

La quantification de l'effort de ponte chez l'huître perlière n'a, à ce jour, jamais été réalisée. Une difficulté importante réside dans l'impossibilité de séparer la gonade du reste de la masse viscérale. Bien que *Pinctada margaritifera* présente des pontes asynchrones, il est possible de travailler sur les deux pics de ponte observés. La méthode que nous utiliserons au cours de cette étude pour quantifier l'effort de reproduction est basée sur un suivi de la maturation dans le but de déceler les périodes de ponte et par suite une ou plusieurs pertes de poids des individus. L'estimation énergétique des produits génitaux se fera par calorimétrie sur l'ensemble gonade+glande digestive. Parallèlement, un suivi des constituants biochimiques, de l'ensemble gonade+glande digestive notamment, sera mis en place. L'objectif, à terme, est de mettre en place une relation allométrique entre la valeur énergétique des produits génitaux et le poids sec de chair.

Espèce	Age	Valeur de l'effort de ponte - ER (selon formule (4))	Auteur
<i>Mytilus edulis</i>	6 ans	0.78	THOMPSON, 1984
<i>Choromytilus meridionalis</i>	15 ans	0.97	GRIFFITHS, 1981.
<i>Perna perna</i>	2 ans	0.5-0.6	BERRY, 1978

Tableau 3 : Valeurs calculées de l'effort de reproduction de quelques espèces de moules.

3.5 INDICATEURS CLASSIQUEMENT ETUDIÉS POUR LA REPRODUCTION

3.5.1 CRITERES MACROSCOPIQUES

3.5.1.1 Echelle macroscopique de détermination des stades de maturation

Cette méthode consiste à attribuer à la gonade, observée macroscopiquement, un stade d'évolution. Pour *Pinctada margaritifera*, deux échelles macroscopiques ont été définies par TRANTER (1958A, 1958C) et THIELLEY (1993).

Echelle de TRANTER :

- 0 : gonade vide,
- 1 : gonade partiellement remplie,
- 2 : gonade presque pleine,
- 3 : gonade pleine.

Echelle de THIELLEY : (reprise de l'échelle de MILLOUS (1980))

- 0 : gonade vide,
- 1 : peu de produits génitaux, tubules clairsemés,
- 2 : taux de remplissage faible, teinte crème homogène,
- 3 : taux de remplissage moyen, teinte crème homogène,
- 4 : gonade presque pleine,
- 5 : gonade pleine, turgescence.

Cette méthode d'évaluation des stades de maturité a l'avantage d'être rapide et simple. Elle présente aussi l'avantage de pouvoir être utilisée sans sacrifice d'animaux. Cependant, cette description de la gonade n'apporte que des renseignements approximatifs sur les stades de maturité de celle-ci. Elle procure principalement des informations sur le développement quantitatif. De plus, elle n'exclut pas certaines interprétations subjectives. La plupart des auteurs, qui utilisent l'examen macroscopique de la gonade comme méthode principale pour évaluer l'état de maturité, y associent une observation microscopique des gamètes par frottis ou coupes histologiques (THIELLEY, 1995).

3.5.1.2 Indicateurs biométriques et calcul d'indices gonadiques

La mesure de poids humide (coquille et surtout chair : muscle adducteur, branchies, gonade), de poids sec et de poids de cendre peut permettre l'établissement de corrélations avec l'évolution de la maturation au moyen d'indices, ainsi que l'établissement de relations allométriques.

Cette méthode est basée sur le fait que le poids ou volume de chair des mollusques est fonction de l'état de maturité de la gonade (THIELLEY, 1995). Ainsi, de nombreuses formules ont été établies afin de définir des indices gonadiques par mesure, d'une part, d'un paramètre relatif à la gonade (poids ou volume) et d'autre part, d'un autre paramètre supposé relativement stable quel que soit l'état de maturité de l'animal.

(1) Indice gonadique (THIELLEY, 1995)

IG = poids sec de gonade / poids sec de coquille

= poids de gonade égouttée / hauteur de la valve supérieure de la coquille

(2) **Indice gonado-somatique** (THIELLEY, 1995)

IGS = poids humide de gonade / poids humide total de chair

De grandes valeurs de l'IGS indiqueront un stade de maturation avancée. De la même façon, de moindres valeurs de l'IGS après de fortes valeurs seront indicatrices d'une ponte. L'IGS donne une bonne estimation du synchronisme ou de l'asynchronisme des stades sexuels.

Lorsqu'il est impossible d'isoler la gonade, comme c'est le cas pour *Pinctada margaritifera*, un **indice de condition** (THIELLEY, 1995) (IC) peut être calculé.

(3) IC = poids ou volume de chair / poids ou volume de coquille,

= poids ou volume de l'ensemble "gonade + glande digestive" / poids ou volume total de chair,

= hauteur de coquille / poids total de chair.

Bien que cet indice reflète l'état de plusieurs organes, il apporte des informations sur l'état de maturité de la gonade qui influence largement l'évolution du poids ou du volume de chair de l'animal.

Les méthodes d'évaluation d'un indice gonadique à partir du volume, du poids, ou de l'épaisseur de la gonade, sont des méthodes procurant des informations quantitatives sur le développement gonadique. Or comme le souligne LUCAS (1965), la grosseur de la gonade n'indique pas toujours un état de maturité. De même, THIELLEY (1995) constate que parfois, chez *Pecten maximus*, le rapport gonado-somatique atteint une valeur maximale avant la complète maturité sexuelle. Ces méthodes quantitatives d'évaluation de l'état de maturité des gonades ne peuvent être utilisées qu'en complément d'autres méthodes qualitatives pour permettre une évaluation précise du stade de maturité. Dans le cadre d'études du cycle de reproduction de certaines espèces comme *Pecten maximus*, chez qui la gonade est facilement isolable, la méthode de calcul d'indices gonadiques est très largement utilisée en complément d'autres méthodes, du fait de la simplicité de sa mise en oeuvre (THIELLEY, 1995). L'indice gonadique n'est que rarement utilisé chez les autres bivalves et notamment chez l'huître perlière. Les auteurs préfèrent utiliser l'indice de condition à partir du poids ou du volume total de chair.

3.5.2 CRITERES MICROSCOPIQUES

Plusieurs types d'observations peuvent être faites, des observations quantitatives et qualitatives.

3.5.2.1 Informations qualitatives

Au niveau qualitatif, il s'agit essentiellement de déterminer une échelle d'évaluation microscopique décrivant les différents stades d'évolution gonadique. Là encore, TRANTER (1958) et THIELLEY (1993) ont déterminé deux échelles microscopiques d'évaluation :

Echelle de TRANTER (1958) : Pour les mâles comme pour les femelles, 5 stades de développement et 3 stades de régression ont été définis. Un stade indifférencié a également été déterminé (Tableau 4).

<i>Mâle</i>		<i>Femelle</i>	
<i>Md₁</i>	Prédominance des cellules souches et des spermatogonies. Peu de spermatocytes.	<i>Fd₁</i>	Surtout des ovogonies et de jeunes ovocytes. Quelquefois, présence d'ovocytes 2. Chromosomes visibles.
<i>Md₂</i>	Prédominance des spermatogonies et spermatocytes. Peu de spermatides et spermatozoïdes.	<i>Fd₂</i>	Ovogonies encore abondants. Quantités égales d'ovocytes 1, 2 et 3. Noyaux des ovocytes plus sombres que le cytoplasme. Chromosomes indistincts.
<i>Md₃</i>	Espace occupé par les spermatocytes équivalent à celui occupé par les spermatides et spermatozoïdes. Flagelle des spermatozoïdes encore invisible. Tubules encore petits.	<i>Fd₃</i>	Ovocytes plus larges qu'au stade précédent mais toujours attachés à la paroi des tubules. Noyaux des ovocytes fréquemment plus clairs que le cytoplasme.
<i>Md₄</i>	Grands tubules. Présence d'une couronne extérieure de spermatocytes. Flagelle des spermatozoïdes visible.	<i>Fd₄</i>	Quantité égales d'ovocytes libres et fixés.
<i>Md₅</i>	Prédominance des spermatozoïdes, tous avec flagelle. Spermatocytes restreints à une étroite couronne périphérique.	<i>Fd₅</i>	Ovocytes larges et pratiquement tous libres. Peu de jeunes ovocytes.
<i>Mr₁</i>	Idem <i>Md₄</i> et <i>Md₅</i> , excepté certains tubules en partie vides, d'autres complètement vides.	<i>Fr₁</i>	Idem <i>Fd₅</i> mais présence de tubules partiellement ou complètement vidés. Peu de phagocytes.
<i>Mr₂</i>	Ponte bien avancée.	<i>Fr₂</i>	Tubules vides, nombreux ovocytes dégénérés, nombreux phagocytes.
<i>Mr₃</i>	Ponte pratiquement complète, peu de cellules germinales restantes.	<i>Fr₃</i>	Présence de quelques ovocytes, tissu de résorption encore présent. Redéveloppement possible de la gonade.
<i>i</i>	Stade inactif. Tubules vides ou contenant seulement des cellules germinales. Présence de phagocytes.	<i>i</i>	Idem mâle.

Tableau 4 : Echelle d'évaluation microscopique de la maturité sexuelle selon TRANTER (1958).

Echelle de THIELLEY (1993) : Cet auteur décrit 4 stades de développement et 2 stades de régression (Tableau 5).

<i>Mâle</i>		<i>Femelle</i>	
<i>Md₁</i>	Quelques tubules, de petite dimension et dispersés dans le tissu conjonctif intertubulaire.	<i>Fd₁</i>	Tubules peu volumineux, renfermant ovogonies, ovocytes prévitellogéniques et quelques ovocytes en début de vitellogenèse. Ovocytes matures encore peu nombreux. Quelques ovocytes atrétiques possibles.
<i>Md₂</i>	Tubules plus volumineux qu'au stade précédent. Tissu conjonctif intertubulaire bien développé. Spermatogonies et spermatoocytes forment une large couronne à la périphérie des tubules alors que les spermatozoïdes occupent la partie centrale.	<i>Fd₂</i>	Tubules plus volumineux qu'au stade précédent, réduction du tissu conjonctif. Présence surtout d'ovocytes prévitellogéniques ou en début de vitellogenèse. Ovocytes matures encore peu nombreux, présence possible d'ovocytes atrétiques.
<i>Md₃</i>	Tubules très volumineux, tissu conjonctif réduit. Spermatozoïdes majoritaires et dans la lumière du tubule. Présence toujours d'une couronne plus claire constituée des spermatogonies et spermatoocytes.	<i>Fd₃</i>	Tubules volumineux, tissu conjonctif presque indiscernable. Nombreux ovocytes en fin de vitellogenèse. Présence possible d'ovocytes pré- ou en début de vitellogenèse et ovocytes atrétiques.
<i>Md₄</i>	Tubules turgescents, tissu conjonctif pratiquement inexistant. Ilots rares de spermatoocytes.	<i>Fd₄</i>	Gonade mature, tubules turgescents. Tissu conjonctif inexistant. Ovocytes matures, comprimés les uns contre les autres.
<i>Mr_{partiel}</i>	Tubules rétractés, les gamètes n'ont pas tous été évacués. Espaces importants entre les tubules avec développement du tissu conjonctif. Formation d'un espace contre la paroi des tubules partiellement vidés. Lumière occupée par les spermatozoïdes. Redéveloppement possible de la gonade, présence possible de jeunes cellules germinales.	<i>Fr_{partiel}</i>	Tubules rétractés et espacés avec développement de tissu conjonctif. Gonade vide partiellement. Présence d'ovocytes en cours de dégénérescence. Redéveloppement gonadique possible.
<i>Mr_{total}</i>	Gonade entièrement vide, tubules rétractés et ne renfermant que quelques spermatozoïdes résiduels. Tissu conjonctif bien développé.	<i>Fr_{total}</i>	Tubules très rétractés, ne renfermant que quelques ovocytes atrétiques. Développement important du tissu conjonctif.
<i>Im</i>	Stade immature, gonade indifférenciée. Tubules gonadiques rarement discernables et ne contenant que des cellules souches.	<i>Im</i>	Idem mâle

Tableau 5 : Echelle d'évaluation microscopique de la maturité sexuelle selon THIELLEY (1993).

Les deux échelles sont basées sur les stades d'évolution des cellules germinales présentes et leurs proportions les unes par rapport aux autres. Cependant, elles présentent certaines différences notables. Tout d'abord, TRANTER détermine un stade de maturation supplémentaire par rapport à THIELLEY en développement comme en régression. D'autre part, les deux échelles prennent également en compte des critères différents (Tableau 6).

<i>Critère</i>	<i>Echelle de TRANTER</i>	<i>Echelle de THIELLEY</i>
Visibilité des flagelles des spermatozoïdes	oui	non
Couleur des noyaux des ovocytes par rapport au cytoplasme	oui	non
Présence de phagocytes au moment de la régression	oui	non
Importance du tissu conjonctif	non	oui
Taille et nombre des tubules	non	oui
Présence d'un espace contre la paroi des tubules en régression	non	oui

Tableau 6 : Différences entre les échelles microscopiques de TRANTER (1958) et THIELLEY (1993).

La réalisation de coupes histologiques est actuellement la méthode la plus précise pour suivre la maturation et évaluer l'état de maturité des gonades.

Cependant, il faut veiller à ce que la coupe histologique permette d'observer la gonade dans toute sa longueur (de l'hépatopancréas jusqu'au sac perlier). En effet, TRANTER (1958) a observé chez *Pinctada albina* l'existence d'un gradient de développement des gamètes dans la gonade. Ainsi, il est possible de déterminer des stades de maturation différents suivant l'endroit de la gonade où l'on se place.

L'évaluation des stades de maturité est également rendue possible par observation des ovocytes sur frottis, mais cette méthode est moins précise que l'histologie. L'observation sur frottis des gamètes mâles n'a jamais été réalisée.

3.5.2.2 Informations quantitatives

Au niveau quantitatif, il est possible de calculer le diamètre moyen des ovocytes à partir de coupes histologiques ou de frottis. Cette méthode consiste, après mesure du diamètre d'un certain nombre d'ovocytes, à établir une moyenne qui permet d'évaluer le stade de maturité de la gonade. Ce critère ne peut, à lui seul, apporter des informations précises sur le stade de maturité des gonades femelles. Cette méthode est systématiquement couplée avec d'autres méthodes (THIELLEY, 1995).

A partir des coupes histologiques, il est également possible de déterminer le GVF ou Gamete Volume Fraction, selon la méthode de MACDONALD et THOMPSON (1986). L'objectif est de déterminer les pourcentages des différentes classes de gamètes dans la gonade. On définit alors un GVF total comprenant :

DGVF : gamètes en développement (spermatogonies, spermatocytes I et II, spermatides pour les mâles ; idem pour les femelles).

MGVF : gamètes matures (spermatozoïdes).

RGVF : gamètes atrétiques.

Cette méthode n'est utilisée qu'en complément à d'autres méthodes (BESNARD, 1988). Elle apporte des informations à la fois qualitatives et quantitatives relativement précises.

En histologie, l'indice gonadique est représenté par le volume de la gonade par rapport au volume de l'ensemble "gonade + glande digestive" (THIELLEY, 1995). L'évaluation de ces volumes

se fait par l'intermédiaire du calcul de la surface de ces deux organes sur des coupes sériées de l'ensemble "gonade + glande digestive". Actuellement, ces mesures sont relativement faciles à effectuer par analyse d'images. Cette méthode est utilisée chez les mollusques pour lesquels la méthode classique d'évaluation d'un indice gonadique ne donne pas de résultats précis c'est-à-dire quand il est impossible d'isoler la gonade. Cette méthode aurait donc été intéressante dans notre cas, cependant, il nous est impossible de la réaliser, faute de temps et de moyens.

3.5.3 DOSAGES BIOCHIMIQUES : PROTEINES / LIPIDES / GLUCIDES

D'importantes variations de la composition biochimique ont été constatées dans les organes de stockage de l'animal, c'est pourquoi l'étude de la reproduction s'y intéresse. En effet, la gonade, la glande digestive, le manteau et le muscle adducteur sont d'importants organes de réserve chez les bivalves (TAYLOR ET AL., 1979 ; STEPHEN, 1980). Ils se présentent sous forme de compartiments entre lesquels il est susceptible de se produire des échanges pour favoriser par exemple le processus de croissance ou le processus de reproduction.

Plusieurs études déjà réalisées ont permis de dégager de grandes tendances quant à l'évolution des concentrations en constituants biochimiques dans ces organes au cours des différentes phases de la reproduction.

Généralement, le poids de la gonade et des autres organes de stockage présentent une relation inverse. Il en est de même pour les niveaux biochimiques. Ainsi, pendant la maturation, on assiste à une augmentation des niveaux de protéines et lipides dans la gonade, alors que le processus inverse se produit dans les autres organes de stockage. Il y a transfert de molécules. Ceci s'observe du muscle adducteur et de la glande digestive vers la gonade pour *Chlamys opercularis* (TAYLOR ET AL., 1979). Le muscle adducteur est également source d'un transfert du glycogène vers la gonade où il y aurait un phénomène de conversion du glycogène en lipides (TAYLOR ET AL., 1979). Chez *Crassostrea madrasensis*, la gamétogenèse implique une diminution des niveaux biochimiques dans le muscle adducteur et le manteau, une augmentation des niveaux de lipides et de protéines dans la gonade pour la production de gamètes. On observe simultanément une chute des niveaux de glucides dans les trois organes (STEPHEN, 1980). DESLOUS-PAOLI et al. (1986) montrent également un accroissement de la teneur en lipides de la chair sèche de *Crepidulata fornicata* pendant la maturation.

Au moment de la ponte (donc en toute fin de maturation), on observe un niveau minimum de glucides et des niveaux maxima de protéines et lipides dans la gonade. Cette tendance s'inverse après la ponte. C'est le phénomène observé par SHAFEE (1989) chez *Perna picta*. Chez *Crepidulata fornicata*, une teneur faible en glycogène est observée avant la ponte en raison de l'utilisation des réserves glucidiques pour passer la mauvaise saison hivernale puis constituer les gamètes (DESLOUS-PAOLI ET AL., 1986).

Pendant les périodes d'inactivité gonadique, la tendance est une accumulation de glucides (SHAFEE, 1989, pour *Perna picta*).

De façon générale, nous pouvons considérer comme suit les variations des niveaux de protéines / lipides / glucides :

	<i>Gonade</i>	<i>Muscle adducteur</i>	<i>Autres organes de stockage</i>
<i>Pendant la maturation</i>			
Lipides	↗	↘	↘
Protéines	↗	↘	↘
Glucides	↘	↘	↘
Glycogène	↘	↘	↘
<i>Au moment de la ponte</i>			
Lipides	niveau max	niveau mini	niveau mini
Protéines	niveau max	niveau mini	niveau mini
Glucides	niveau mini	niveau mini	niveau mini
Glycogène	niveau mini	niveau mini	niveau mini
<i>Pendant le repos sexuel</i>			
Lipides	niveau mini	↗	↗
Protéines	niveau mini	↗	↗
Glucides	niveau mini	↗	↗
Glycogène	niveau mini	↗	↗

Tableau 7 : Variations des niveaux de lipides, protéines, glucides dans les organes de stockage des bivalves.

3.5.4 CONCLUSION

Concernant *Pinctada margaritifera*, deux échelles de détermination macroscopique des stades existent, nous avons donc décidé de les utiliser lors de notre étude de la reproduction. Cependant, cette méthode est insuffisante pour assurer une détermination précise et sûre, c'est pourquoi elle sera systématiquement couplée à une étude histologique. La détermination histologique sera basée sur les deux échelles qui ont aussi été données.

Les méthodes donnant des informations quantitatives sont possibles (calcul de l'indice de condition, calcul du diamètre des ovocytes, répartition des différentes classes gamétiques) mais ne sont pas indispensables à la détermination des stades de maturité sexuelle. Le calcul des indices gonadique et gonado-somatique ne sera pas réalisé dans le cas de *P.margaritifera* puisqu'il est impossible d'isoler la gonade. Cependant, nous calculerons des indices hépato-gonadique et hépato-gonado-somatique (sur l'ensemble hépatopancréas+gonade).

Nous retiendrons, pour notre étude, l'analyse des composants biochimiques puisque nous avons pu constater que leurs variations représentaient de bons indicateurs du cycle de reproduction. De la même façon, ces analyses seront réalisées sur l'ensemble « hépatopancréas+gonade » et non la gonade seule.

3.6 FACTEURS INFLUENCANT LA MATURATION ET/OU LA PONTE

3.6.1 TEMPERATURE

La température a été reportée comme le facteur principal dirigeant la reproduction des bivalves marins (KENNEDY ET AL., 1982). Les effets de la température sont connus sous la forme de deux résultantes :

- La gamétogenèse de nombreuses espèces s'effectue dans un champ restreint de température, défini par des minimales et des maximales. Chez *Perna perna*, les meilleurs croissance et gamétogenèse sont obtenus à une température de 21°C. Par contre, la gamétogenèse est inhibée par les hautes températures (28°C) (VELEZ ET AL., 1981). La gamétogenèse de *Crassostrea gigas* et *Ostrea edulis* est corrélée à la température de l'eau (MANN, 1979). Pour les deux espèces, l'initiation de la gamétogenèse a lieu à des températures différentes suivant les différentes régions du monde (SPHIGEL, 1989). Alors que les basses températures des mois d'hiver arrêtent la gamétogenèse de ces deux bivalves, SPHIGEL (1989) montre que la température de l'eau en Israël ne diminue jamais suffisamment pour interrompre la gamétogenèse des huîtres. Par conséquent, le processus de maturation est considérablement raccourci, de 40 à 50 jours pour *Ostrea edulis* et 50 à 60 jours pour *Crassostrea gigas*. *Ostrea edulis* se développe dans les mers froides (SPHIGEL, 1989). Son développement gamétogénétique en Israël est raccourci au point que le cycle normal de maturation est inversé. La ponte intervient pendant l'hiver et la régression (repos) en été, qui est normalement sa saison de ponte dans ses eaux d'origine. Pour *Crassostrea gigas*, qui est une espèce subtropicale (SPHIGEL, 1989), bien que son cycle de maturation soit raccourci en Israël, l'huître suit tout de même le même modèle que dans ses eaux d'origine.
- Une fois la gamétogenèse achevée, la température agirait comme un facteur déclencheur de la ponte. Chez *Argopecten circularis*, FELIX-PICO et al. (1995) montrent une influence de la température de l'eau sur le déclenchement de la ponte. BAYNE (1965, 1976) considère que 7°C est la température minimale de l'eau pour déclencher la ponte chez plusieurs invertébrés et que la température, aussi bien en valeur absolue qu'en taux de variation, est un facteur important dans la synchronisation du cycle de reproduction. MORETEAU (1983) met en évidence l'influence combinée de la température de l'air et de l'eau sur les fréquences de dates de ponte de *Littorina rudis*. Pour *Crassostrea gigas*, la température doit atteindre 17°C pour permettre l'émission des produits génitaux (SOLECHNIK, 1996).

Chez *Pinctada margaritifera*, la température apparaît comme le principal facteur jouant un rôle sur l'évolution du développement des gonades (THIELLEY, 1993). Le développement des gonades serait le plus important durant les périodes correspondant aux changements de saison. Les périodes de variations brutales de la température (réchauffement ou refroidissement) entraîneraient des pontes massives avec une déplétion importante des gonades (THIELLEY, 1993).

3.6.2 SALINITE

Dans une moindre mesure que la température, la salinité est également un facteur environnemental influençant la reproduction des bivalves.

Chez *Crassostrea madrasensis*, les variations de salinité synchronisent le cycle gamétogénétique (STEPHEN, 1980). LEFORT (1994) montre une influence de la salinité sur la ponte de *Mimachlamys gloriosa*. Les pontes seraient dues à une chute de la salinité (de 34.95 à 31 ‰).

Selon THIELLEY (1993), la salinité ne semble pas avoir de rôle capital sur le cycle de reproduction de *Pinctada margaritifera*.

3.6.3 NUTRITION

Enfin, la ressource alimentaire, variable spatialement et dépendante de la production primaire, est un facteur déterminant dans les processus de croissance et de reproduction de tout animal.

Chez *Mytilus edulis*, c'est la stratégie de reproduction de l'animal qui va dépendre de la qualité et la quantité de la ration alimentaire (RODHOUSE et al., 1984). Suivant la ressource alimentaire, l'animal va adopter un comportement conservateur avec une ponte par an ou un comportement opportuniste avec deux pontes par an.

Chez *Placopecten magellanicus*, une grande disponibilité alimentaire aura pour conséquence une plus grande production de gamètes, une maturation plus rapide ainsi qu'une meilleure fécondité (MACDONALD and THOMPSON, 1986). Dans les mêmes conditions alimentaires, on observe une meilleure croissance et une meilleure gamétogenèse de *Perna perna* (VELEZ et al., 1981).

3.6.4 INTERACTIONS

On observe que la reproduction est induite par une combinaison de facteurs internes et environnementaux et que leur interaction peut varier de façon saisonnière, produisant des variations annuelles.

Ainsi, on associe souvent les effets de la température à l'effet d'autres facteurs :

- La salinité. C'est le cas d'*Ostrea virginica* (LOOSANOFF, 1942).
- La disponibilité alimentaire. Par exemple, la maturation et la fécondité de *Placopecten magellanicus* sont moins bonnes en eau profonde quand les températures sont basses et la disponibilité alimentaire faible (MACDONALD et THOMPSON, 1986).

3.6.5 CONCLUSION

Les facteurs environnementaux ont une action déterminante sur la maturation et la ponte de la plupart des bivalves. Sur l'influence des ces facteurs sur *Pinctada margaritifera*, peu d'éléments sont encore connus. La température, la salinité et le régime alimentaire peuvent constituer un moyen de contrôler la maturation et de déclencher artificiellement la ponte, nous permettant de calculer expérimentalement un effort de reproduction.

3.7 CONCLUSION GENERALE A LA SYNTHÈSE

Concernant la reproduction de *Pinctada margaritifera*, il est possible de rassembler un certain nombre de tendances qui devront diriger notre étude :

- un hermaphrodisme protandre,
- un âge à la première maturité variable selon les auteurs mais qui semble néanmoins être tardif, autour de deux ans,
- la présence de deux pics de ponte majeurs, vers février-mars et septembre-octobre, mais là aussi les données sont variables selon les auteurs,
- la possibilité de pontes partielles et asynchrones tout au long de l'année,
- une maturation très certainement rapide mais un manque de données à ce niveau,
- un effort de ponte encore inconnu.

Il reste encore beaucoup d'inconnues sur le cycle de reproduction de *P.margaritifera* et les auteurs tombent rarement d'accord. Ceci implique donc un nouveau suivi annuel avec des prélèvements à haute fréquence (inférieurs à un mois) et sur des animaux de différentes classes d'âge, afin de mieux connaître les périodes de ponte.

L'estimation de l'effort de reproduction de *P.margaritifera*, qui constitue l'objectif de notre étude, est d'autant plus complexe que la gonade est impossible à isoler du reste de la masse viscérale. Un certain nombre de techniques exploratoires *in situ* telles que l'analyse des paramètres biochimiques et la calorimétrie devraient donner une première estimation. Cette approche sera complétée par des expériences en laboratoire de maturation et de déclenchement artificiel de la ponte.

4. ETUDE IN SITU DE LA REPRODUCTION

4.1 MATERIEL ET METHODES

4.1.1 MATERIEL VIVANT

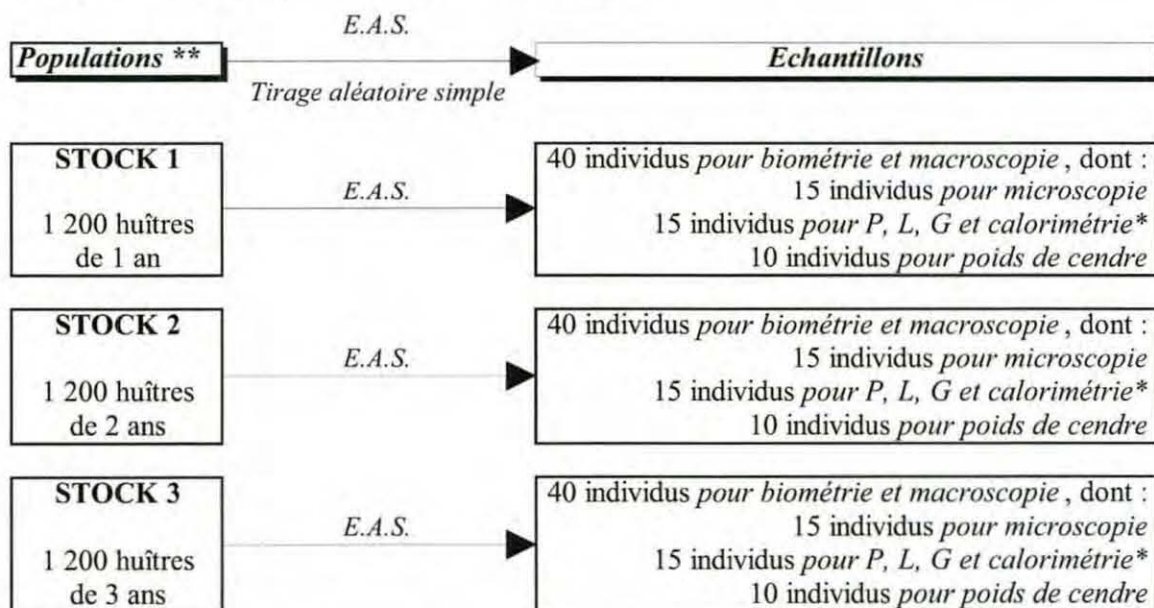
4.1.1.1 Plan d'échantillonnage

L'étude *in situ* de la reproduction de *Pinctada margaritifera* s'inscrit dans un vaste programme d'étude de la croissance, de la reproduction et du milieu lagonaire de Takapoto prévu pour une durée d'un an, l'ensemble de ces données servant à caler le modèle physiologique de la croissance de l'huître perlière.

Pour cela, trois stocks d'huîtres perlières, d'âge différent (1, 2 et 3 ans), ont été mis en place début février 1997 dans le lagon de l'atoll de Takapoto et constituent un élevage expérimental. Afin de suivre la croissance et la reproduction au sein de chaque stock, un tirage aléatoire simple (E.A.S., FRONTIER S., 1983) de 40 individus est effectué selon un pas d'échantillonnage bimensuel. Ces 40 individus sont ensuite répartis pour subir différentes mesures :

- un suivi de la croissance en coquille et chair par biométrie,
- un suivi de la maturation par des méthodes macroscopiques et microscopiques,
- un suivi des taux de protéines/lipides/glucides (P, L, G) de différents organes,
- une analyse calorimétrique réalisée sur les mêmes organes.

En raison de contraintes techniques (longueur des analyses), la microscopie, les dosages de P, L, G, la calorimétrie ainsi que les poids de cendre ne peuvent être réalisés sur les 40 individus. La répartition suivante a été choisie :



* : Les dosages biochimiques et la calorimétrie ne sont réalisés que mensuellement.

** : Les âges des populations sont à ± 2 mois près par rapport au mois de mars 1997.

Figure 4 : Plan d'échantillonnage de l'étude *in situ*.

Si le programme est prévu pour une durée d'un an (soit environ 26 prélèvements), le travail, présenté ici, est réalisé à partir de 10 échantillons prélevés bimensuellement du 25 mars au 29 juillet 1997.

4.1.1.2 Transfert des huîtres

Les nacres sont acheminées jusqu'à Tahiti par avion. La plupart des analyses réalisées doivent prendre en compte le transfert assez long des animaux, du site d'élevage jusqu'aux laboratoires de l'IFREMER à Vairao. Pour obtenir des données comparables, une standardisation des conditions de transfert et surtout des délais avant mesure est recherchée.

Le prélèvement dans le lagon de Takapoto a lieu dans la matinée. Les nacres sont nettoyées puis conditionnées en glacière, disposées bien à plat. Le transport a donc lieu à sec. A l'arrivée, généralement le soir, elles sont stockées pour toute la nuit dans le compartiment du bas du réfrigérateur. Bien que toujours vivantes, ce traitement les amène souvent à entrouvrir leurs valves, ce qui facilite ensuite la dissection. Les analyses débutent le matin suivant.

4.1.2 VARIABLES ETUDIEES

4.1.2.1 Mesures biométriques sur la coquille et la chair

Après ouverture des valves, la chair de nacre est détachée de sa coquille par section du muscle adducteur, en veillant à ne pas laisser de fragments de muscle adhérent à la coquille. Le byssus, souvent peu développé, est détaché.

La coquille subit différentes mesures :

- dimension extérieure : hauteur extérieure ;
- dimensions intérieures : hauteur intérieure, hauteur de nacre, largeur de nacre, largeur du talon ;
- pesée : poids de la coquille humide.

Le détail de ces mensurations est présenté en annexe 1.

Parallèlement, la chair est égouttée sur un papier buvard avant d'être pesée dans son ensemble. Elle est ensuite placée en boîte de Petri et soigneusement identifiée.

L'huître est ensuite disséquée au ciseau afin d'isoler plusieurs organes : le muscle adducteur, le muscle rétracteur du pied, les branchies et le reste de la masse viscérale comprenant la glande digestive, la gonade, le coeur, les palpes labiaux, le sac perlier et une partie du tube digestif. La dissection ne permet pas d'isoler la gonade. Les poids de ces différentes parties sont notés.

L'huître disséquée, conditionnée en boîte de Petri, est congelée puis lyophilisée. La lyophilisation est une dessiccation par sublimation (passage de l'état solide à l'état gazeux) à basse température. Cette méthode n'entraîne aucun risque d'éclatement des cellules. Elle est réalisée dans un lyophilisateur de type FREEZE MOBILE 6, pendant une durée variable suivant la taille de l'animal :

- environ 24 heures, pour des huîtres de 1 an, d'un poids moyen de chair d'environ 2 g,
- environ 36 heures, pour des huîtres de 2 ans, d'un poids moyen de chair d'environ 20 g,

- environ 48 heures, pour des huîtres de 3 ans, d'un poids moyen de chair d'environ 30 g.

Les poids des organes lyophilisés sont relevés.

4.1.2.2 Suivi de la maturation sexuelle

Chaque individu fait l'objet d'une détermination du sexe, soit par histologie pour les individus subissant cette manipulation, soit par frottis (prélèvement au scalpel du contenu gonadique et étalement sur lame pour observation au microscope) pour les autres individus.

Le suivi des stades de maturation se fait par deux méthodes :

- Une détermination macroscopique du stade de maturation de la gonade grâce aux deux échelles citées dans la synthèse bibliographique.

- Une étude histologique sur une coupe de gonade effectuée dans la glande digestive ou dans la partie de la gonade située au niveau de la poche perlière (protocole en annexe 2). Les deux échelles microscopiques citées dans la synthèse bibliographique seront utilisées. Un stade indéterminé (I) a été ajouté. Ceci indique que, parfois, une mauvaise coupe ou une quantité trop faible de produits génitaux ne nous a pas permis de déterminer un stade de développement.

4.1.2.3 Poids de cendre

Une calcination au four du muscle adducteur, du muscle pédieux, des branchies et de l'ensemble gonade+glande digestive, après lyophilisation et broyage, permet de déterminer le poids de cendre. Les différents organes sont disposés dans des godets en céramique, dont le poids est parfaitement connu, avant d'être placés dans un four. La température est progressivement augmentée jusqu'à 520°C et la crémation est effective après 12 heures à cette température. Cette mesure permettra l'établissement d'une correction lors des dosages des constituants biochimiques.

4.1.2.4 Analyse des constituants biochimiques

Le muscle adducteur et l'ensemble gonade+glande digestive (comme décrit au 1.2) sont broyés afin d'obtenir une fine poudre homogène permettant les dosages des protéines / lipides / glucides. Les protéines sont dosées par la méthode de LOWRY et al. (1951), les lipides par la méthode de BLIGH et DYER (1959) et les glucides (glucides totaux et glycogène) par la méthode de DUBOIS et al. (1956) (protocoles en annexe 3). Ils sont calculés sur un poids sec sans cendre.

Les échantillons ne subissant pas l'analyse sont conservés au congélateur pour une éventuelle analyse complémentaire. Des problèmes techniques font que nous ne sommes pas en possession des résultats des trois derniers prélèvements au moment de cette rédaction.

4.1.2.5 Calorimétrie

Le muscle adducteur, les branchies et l'ensemble gonade+glande digestive broyés font l'objet d'une détermination de leur valeur énergétique par calorimétrie (protocole en annexe 4). Les échantillons ne subissant pas l'analyse sont conservés au congélateur. La calorimétrie n'a porté que sur le premier prélèvement, en raison d'un problème technique. Pour la conversion en équivalent énergétique des différentes productions, nous utiliserons les valeurs trouvées lors de l'analyse du premier prélèvement.

4.1.2.6 Notation des variables

Tous les paramètres mesurés sont résumés dans le tableau n°8. Une notation simplifiée a été utilisée pour chacun d'eux.

Mesures	Notation des variables	Nombre d'animaux concernés / stock	Pas d'échantil - lonnage	Nature des variables
Biométrie coquille				
Hauteur extérieure	HEXT	40	Bimensuel	simples quantitatives
Hauteur intérieure	HINT	40	Idem	
Hauteur de nacre	HNAC	40	Idem	
Largeur de nacre	LNAC	40	Idem	
Largeur du talon	LTAL	40	Idem	
Poids humide	PHCQ	40	Idem	
Poids de matière humide				
Chair totale	PHCH	40	Bimensuel	simples quantitatives
Muscle adducteur	PHMU1	40	Idem	
Muscle pédieux	PHMU2	40	Idem	
Branchies	PHBR	40	Idem	
Gonade+glande digestive	PHGO	40	Idem	
Poids de matière sèche				
Muscle adducteur	PSMU1	40	Bimensuel	simples quantitatives
Muscle pédieux	PSMU2	40	Idem	
Branchies	PSBR	40	Idem	
Gonade+glande digestive	PSGO	25	Idem	
Poids de cendre				
Muscle adducteur	PCMU1	10	Mensuel	simples quantitatives
Muscle pédieux	PCMU2	10	Idem	
Branchies	PCBR	10	Idem	
Gonade+glande digestive	PCGO	10	Idem	
Sexage				
	SEXE	40	Bimensuel	simple qualitative
Stade macroscopique de maturation				
	MACR	40	Bimensuel	simple, semi-quantitative
Stade microscopique de maturation				
	MICR	15	Bimensuel	simple, semi-quantitative
P, L, G				
Muscle adducteur	PROT,LIP,GLU,GLYMU	15	Mensuel	synthétiques quantitatives
Gonade+glande digestive	PROT,LIP,GLU,GLYGO	15	Idem	
Calorimétrie				
Muscle adducteur	CALMU	15	Mensuel	simples quantitatives
Branchies	CALBR	15	Idem	
Gonade+glande digestive	CALGO	15	Idem	
Rapports gonado-somatique				
Pds sec gonade/Pds sec coquille	RGS _{cq}	25	Bimensuel	synthétiques quantitatives
Pds sec gonade/Pds sec chair	RGS _{ch}	25	Idem	
Pds sec gonade/Pds sec muscle adducteur	RGS _{mu}	25	Idem	
Pourcentage en eau				
Muscle adducteur	EAUMU1	40	Bimensuel	synthétiques quantitatives
Branchies	EAUBR	40	Idem	
Muscle pédieux	EAUMU2	40	Idem	
Gonade+glande digestive	EAUGO	25	Idem	

Tableau 8 : Notation des variables utilisées pour l'étude in situ.

4.1.3 TRAITEMENT STATISTIQUE DES DONNEES

Le traitement statistique des données issues de l'étude *in situ* réside dans l'estimation de la moyenne et son intervalle de confiance à 95% pour chacune des variables précédemment citées et pour chaque prélèvement.

L'estimation de ces deux paramètres se fait selon les règles préétablies de l'échantillonnage aléatoire simple (FRONTIER S., 1983).

La méthode est la même pour chaque stock.

4.1.3.1 Les variables quantitatives

Ces variables ont été présentées dans le tableau précédent.

Les estimateurs non biaisés de la moyenne et de sa variance sont les suivants :

- Moyenne :

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

- Variance :

$$V(\bar{y}) = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n(n-1)} \left(1 - \frac{n}{N}\right) \text{ avec } n = 40 \text{ et } N = 1\,200$$

L'intervalle de confiance, au risque $\alpha=0,05$, se calcule comme suit :

$$\Pr\left\{\bar{y} - z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{V(\bar{y})} < \bar{Y} < \bar{y} + z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{V(\bar{y})}\right\} = 1 - \alpha$$

$z_{\alpha/2}$ obéit à la loi normale car la taille de l'échantillon est supérieure à 30.

4.1.3.2 Les variables semi-quantitatives et qualitatives

Ces variables sont exposées dans le tableau n°8.

Les estimateurs non biaisés de la proportion et de sa variance sont les suivants :

- $p_i = a_i / n$ avec a_i : nombre d'éléments de l'échantillon possédant le caractère c_i

$$- Var(p_i) = \frac{p_i(1-p_i)}{n-1} \cdot \frac{N-n}{N}$$

Le calcul de l'intervalle de confiance se fait comme suit :

$$\Pr\left\{p_i - \left(z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{Var(p_i)} + \frac{1}{2n}\right) < P_i < p_i + \left(z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{Var(p_i)} + \frac{1}{2n}\right)\right\} = 1 - \alpha$$

avec $n = 40$, $N = 1\,200$ et $\alpha = 0,05$

Cependant, les conditions d'application de cette formule sont très restreintes :

- l'échantillon doit être de taille supérieure à 30,

- la proportion p_i ne doit pas s'éloigner de 0,5.

Dans les cas où cette formule ne pouvait être utilisée sans violation des conditions d'applications, l'intervalle de confiance a été calculé à partir de tables préétablies (SCHERRER, 1984).

Par exemple, pour la variable concernant les stades de maturité microscopiques, le calcul fait appel au cas des petits échantillons puisque la mesure est réalisée sur des échantillons d'effectif 15. Il est alors impossible d'assimiler la distribution à une distribution normale et il faut avoir recours à une distribution binomiale. Les limites inférieures et supérieures de l'intervalle de confiance sont données par les tables (SCHERRER B., 1984).

Pour la variable concernant le sexe, le calcul fait appel au cas des proportions proches de l'unité ou de zéro. Bien que l'effectif de l'échantillon soit élevé (40), l'approximation normale n'est pas valable quand le pourcentage est très faible comme c'est le cas lorsqu'il y a eu peu de femelles. Il faut utiliser la loi de Poisson et calculer des limites inférieure et supérieure à l'intervalle de confiance comme dans le cas précédent. Ces limites sont données par les tables (SCHERRER B., 1984).

4.1.3.3 Les variables synthétiques

Ces variables sont présentées dans le tableau n°8.

Ces variables synthétiques, notées Z , résultent du quotient de 2 variables simples notées X , Y . Les estimateurs de la moyenne et de la variance sont les suivants :

$$- \bar{z} = \frac{\bar{y}}{\bar{x}}$$

$$- V(\bar{z}) = \frac{\left(1 - \frac{n}{N}\right) \left(\sum y^2 - 2\bar{z} \sum xy + \bar{z}^2 \sum x^2\right)}{\bar{x}^2 (n-1)n}$$

où $N = 1\ 200$ et n représente la taille de l'échantillon.

L'intervalle de confiance, avec $\alpha=0,05$, se calcule comme suit :

$$\Pr\left\{\bar{z} - z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{V(\bar{z})} < Z < \bar{z} + z_{\alpha/2} \cdot \sqrt{V(\bar{z})}\right\} = 1 - \alpha$$

La taille n de l'échantillon varie selon les variables calculées. Dans certains cas ($n < 30$), les estimateurs présentent un léger biais. Cependant, différentes contraintes techniques ont empêché, pour certaines variables, la réalisation d'échantillons de grande taille.

4.1.4 METHODE DE CALCUL DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

Le suivi des variables précédemment citées permet d'identifier les périodes de maturation et de ponte chez les animaux de 1, 2 et 3 ans. Dans le cas d'une ponte synchrone, la variation de moyenne du poids de matière sèche de la gonade permet d'estimer la perte due à l'émission des gamètes.

La figure 5 présente l'évolution théorique du poids moyen de matière sèche dans la gonade chez une population d'huîtres perlières.

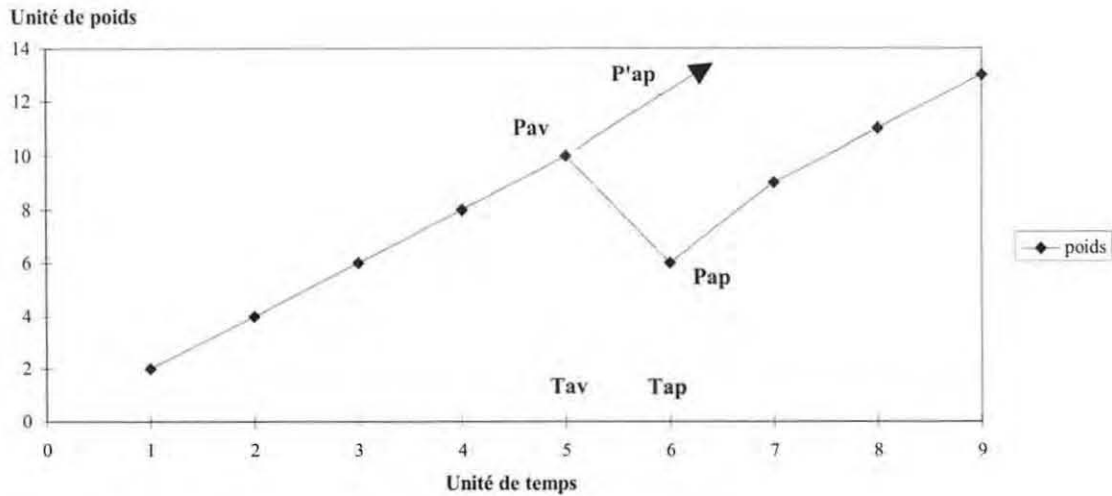


Figure 5 : Evolution théorique du poids de matière sèche dans la gonade.

Soit :

Tav, la date du prélèvement avant la ponte,

Tap, la date du prélèvement après la ponte,

Pav, le poids de matière sèche de la gonade avant la ponte,

Pap, le poids de matière sèche de la gonade après la ponte.

Si la ponte a eu lieu bien avant le prélèvement Tap, la gonade a eu le temps de poursuivre sa croissance. Le risque de sous-estimer la production de gamètes Pr, par la simple différence Pav-Pap devient non négligeable.

Une correction par le taux d'accroissement instantané précédent la ponte permet d'estimer un poids sec théorique P'ap :

$$P'ap = Pav + \{(Pav - Pav_{-1}) / (Tav - Tav_{-1})\}$$

L'estimation de Pr est la suivante :

$$Pr = P'ap - Pap \Leftrightarrow Pr = Pav - Pap + \{(Pav - Pav_{-1}) / (Tav - Tav_{-1})\}$$

Cette estimation de Pr est en grammes. Une conversion en équivalent énergétique est réalisée en utilisant la valeur déterminée par BAYNE (1976) sur *Mytilus edulis* : 1 mg d'oeufs secs = 23 joules.

Afin de calculer un effort de reproduction, des bilans énergétiques des différentes productions sont estimées au moyen de coefficients de conversion.

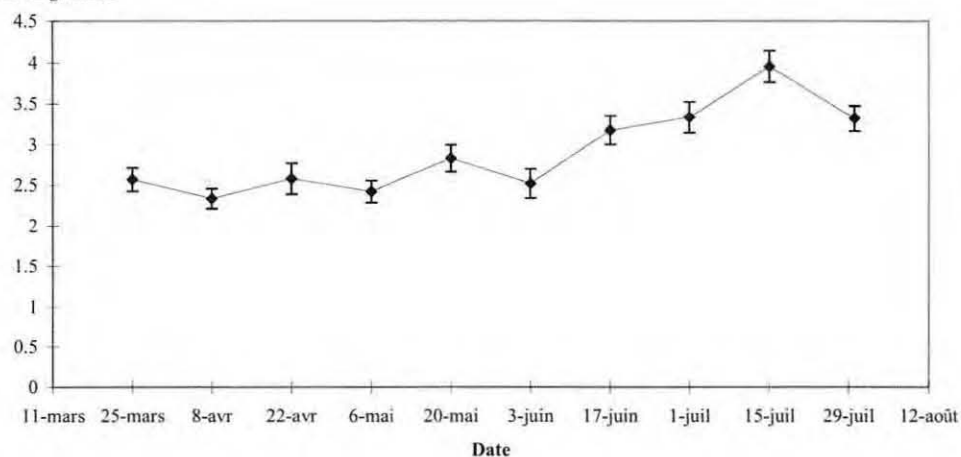
Pour le coefficient de conversion énergétique attribué à la coquille, on considère en première approximation que la fraction organique de la coquille représente 3,4%. La valeur énergétique des protéines de la coquille est estimée à 21,09 J/mg (HUGUES, 1970). Ces estimations reviennent à considérer un équivalent énergétique de 717 J/g de poids sec de coquille.

Les coefficients attribués aux organes du soma ont été déterminés par calorimétrie lors du premier suivi.

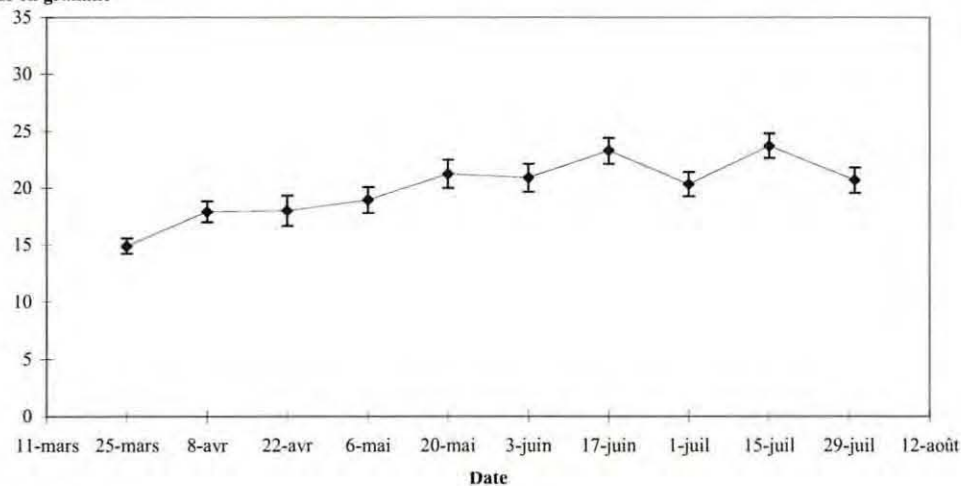
4.2 RESULTATS

4.2.1 VARIATION TEMPORELLE DU POIDS DE CHAIR HUMIDE ET DU POIDS DE COQUILLE HUMIDE

Poids en gramme



Poids en gramme



Poids en gramme

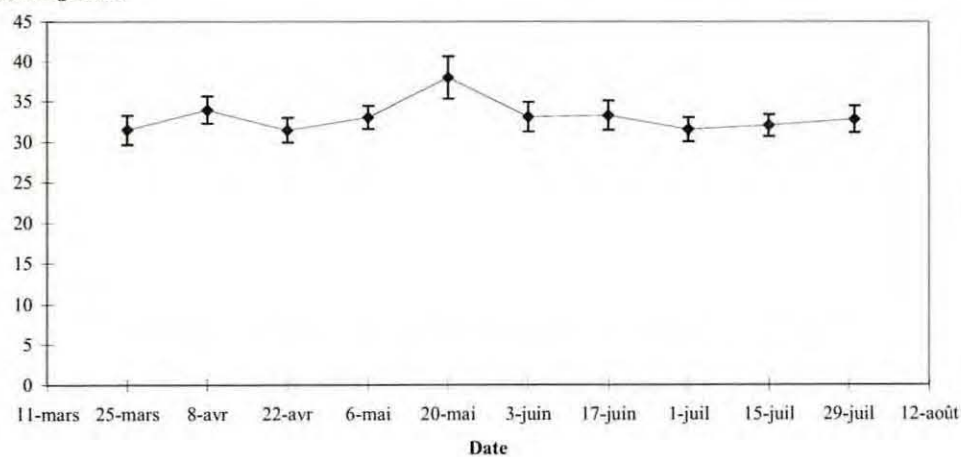


Figure 6 : Variation temporelle du poids de chair humide pour les trois stocks.

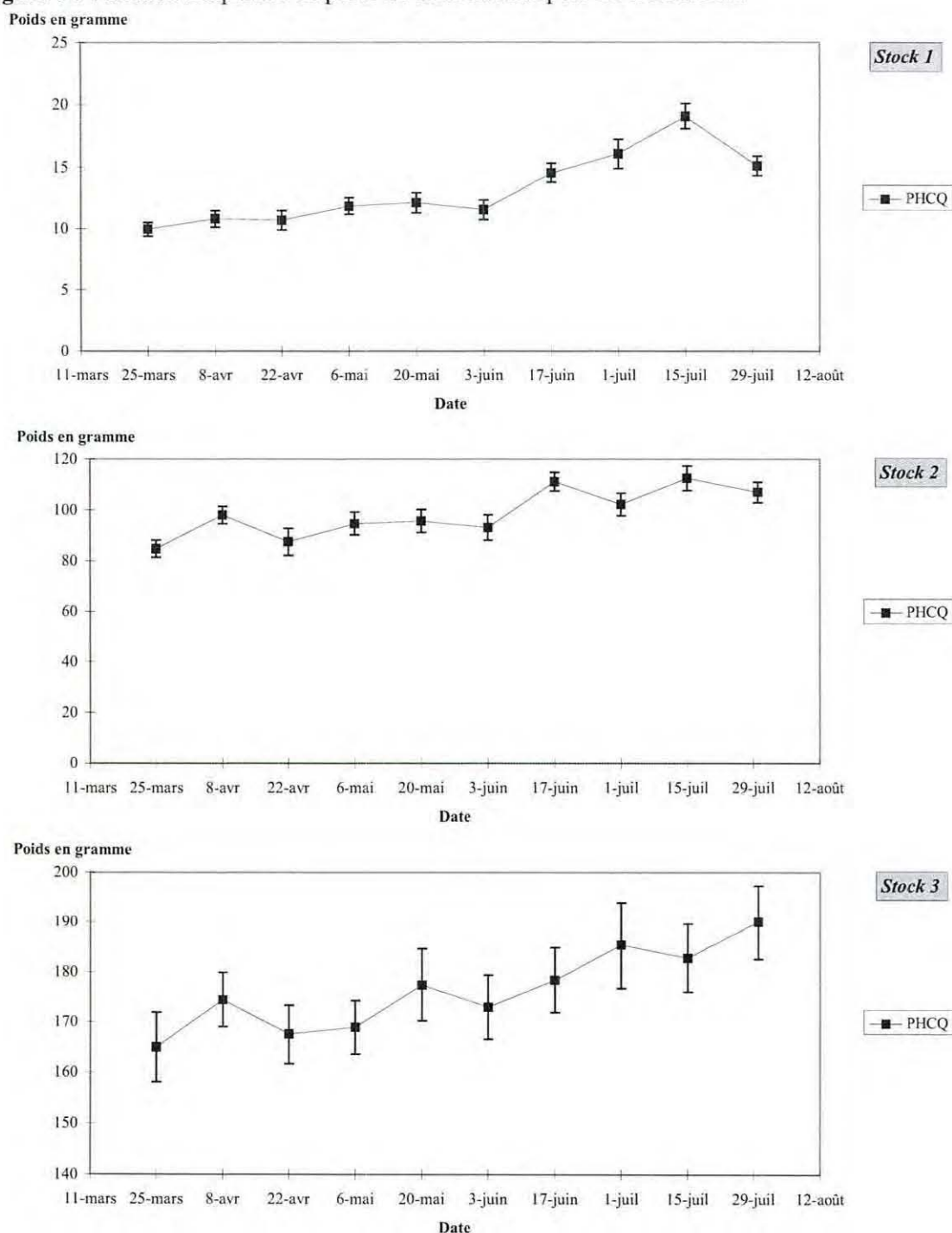


Figure 7 : Variation temporelle du poids de coquille humide pour les trois stocks.

Pour le stock 1, le poids de chair humide est globalement croissant sur toute la période (+0,7g). Des accidents sont visibles entre les 20 mai et 3 juin (-0,3g), et du 15 au 29 juillet (-0,6g). Le poids de la coquille humide ne subit qu'un accident, entre les 15 et 29 juillet. Une ponte est possible à la fin du mois de mai.

Pour le stock 2, le poids de chair humide est également croissant sur la période (+5,8g). Deux accidents sont observés dans la croissance : entre les 17 juin et 1er juillet (-3g), et entre les 15 et 29 juillet (-3g). Cependant, ces deux accidents sont visibles au niveau du poids de coquille humide. Il s'agit donc de périodes d'amaigrissement général.

Le stock 3 présente une croissance en chair humide faible (+1,3g). Un accident de croissance peut être déterminé pour le poids de chair humide : une baisse du 20 mai au 3 juin (-4,9g). Cette baisse n'est pas corrélée à une période d'amaigrissement de la coquille, il est possible qu'il y ait eu une ponte.

4.2.2 VARIATION TEMPORELLE DES STADES DE MATURITE SEXUELLE

4.2.2.1 *Les stades macroscopiques* (Figure 8)

Pour le stock 1, des produits génitaux sont développés dès le mois de mars 1997, puisque près de 50% des huîtres sont en stade 1 et 10% en stade 2. La répartition des stades varie peu sur la période et les animaux du stock 1 semblent être peu matures. La majorité d'entre eux est en stade 0 ou 1 (entre 50 et 90% à chaque prélèvement).

Pour le stock 2, les nacres sont majoritairement en stades 2 ou 3 (entre 55 et 85%) jusqu'au 6 mai. Le prélèvement du 20 mai se caractérise par une forte proportion de stade 3 avec 65% ($48,5 < p < 79,4$ - Annexe 5) des individus. Le 3 juin, une brutale disparition du stade 3 est observée avec réapparition des stades 0 et 1 (17,5 et 65%), permettant de supposer l'existence d'une ponte fin mai. Après le 3 juin, le stade 3 reprend progressivement la place occupée au début du suivi.

Pour le stock 3, les stades 3 et 4 sont majoritaires (entre 55 et 87%) depuis le début du suivi et jusqu'au 20 mai. Le prélèvement du 3 juin se caractérise par une disparition de ces deux stades. Les stades 0, 1 et 2 deviennent alors largement majoritaires (plus de 95%). Une ponte est donc probable le 20 mai. Par la suite, les stades 3 et 4 réaugmentent progressivement.

L'étude macroscopique des stades de maturité donne lieu à deux observations :

- La présence de produits génitaux dès l'âge d'1 an, mais pas de période de ponte apparente chez les huîtres de cet âge,
- La possibilité d'une ponte à la fin du mois de mai pour les stocks 2 et 3.

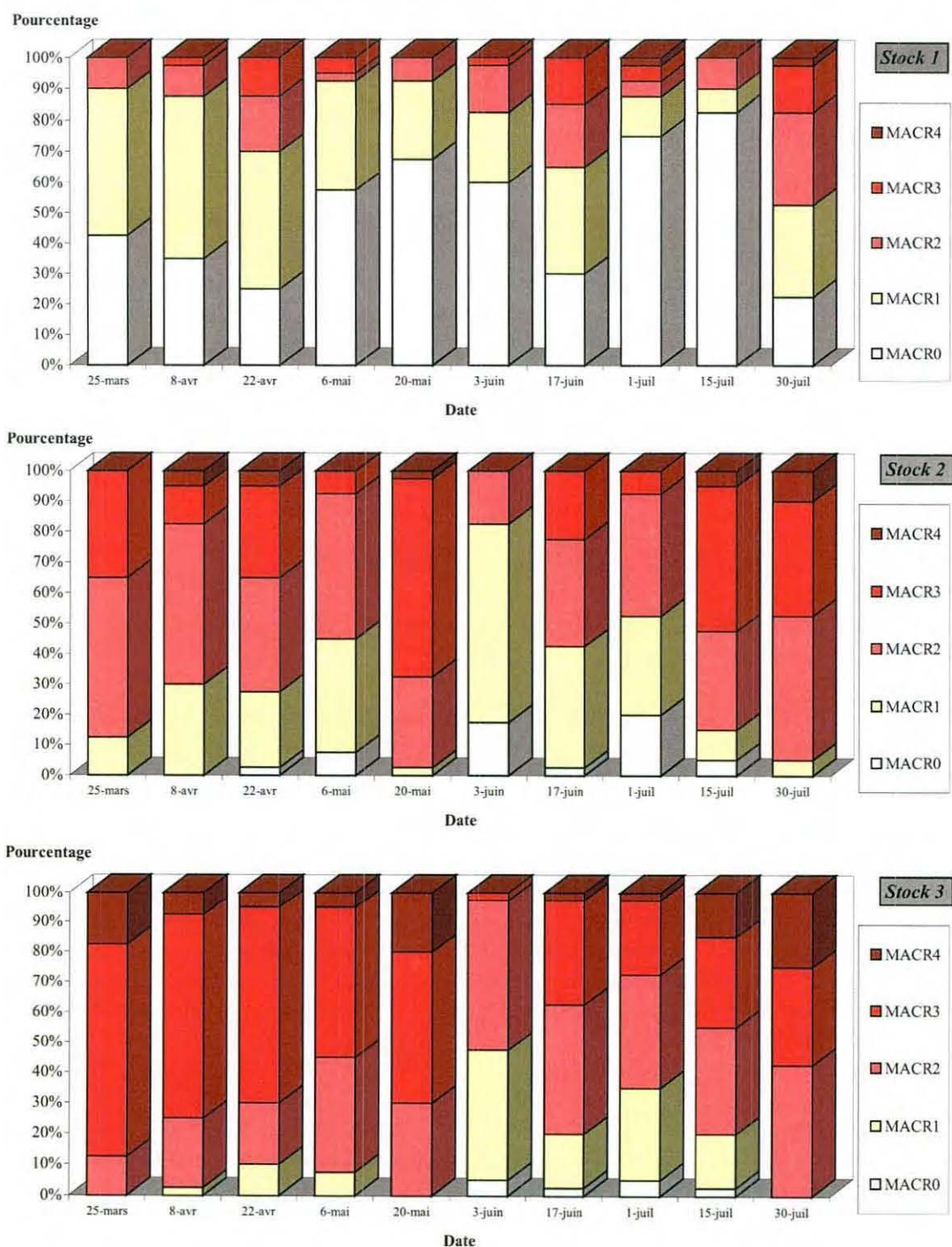


Figure 8 : Variation temporelle des stades de maturité macroscopiques pour les trois stocks.

4.2.2.2 Les stades microscopiques

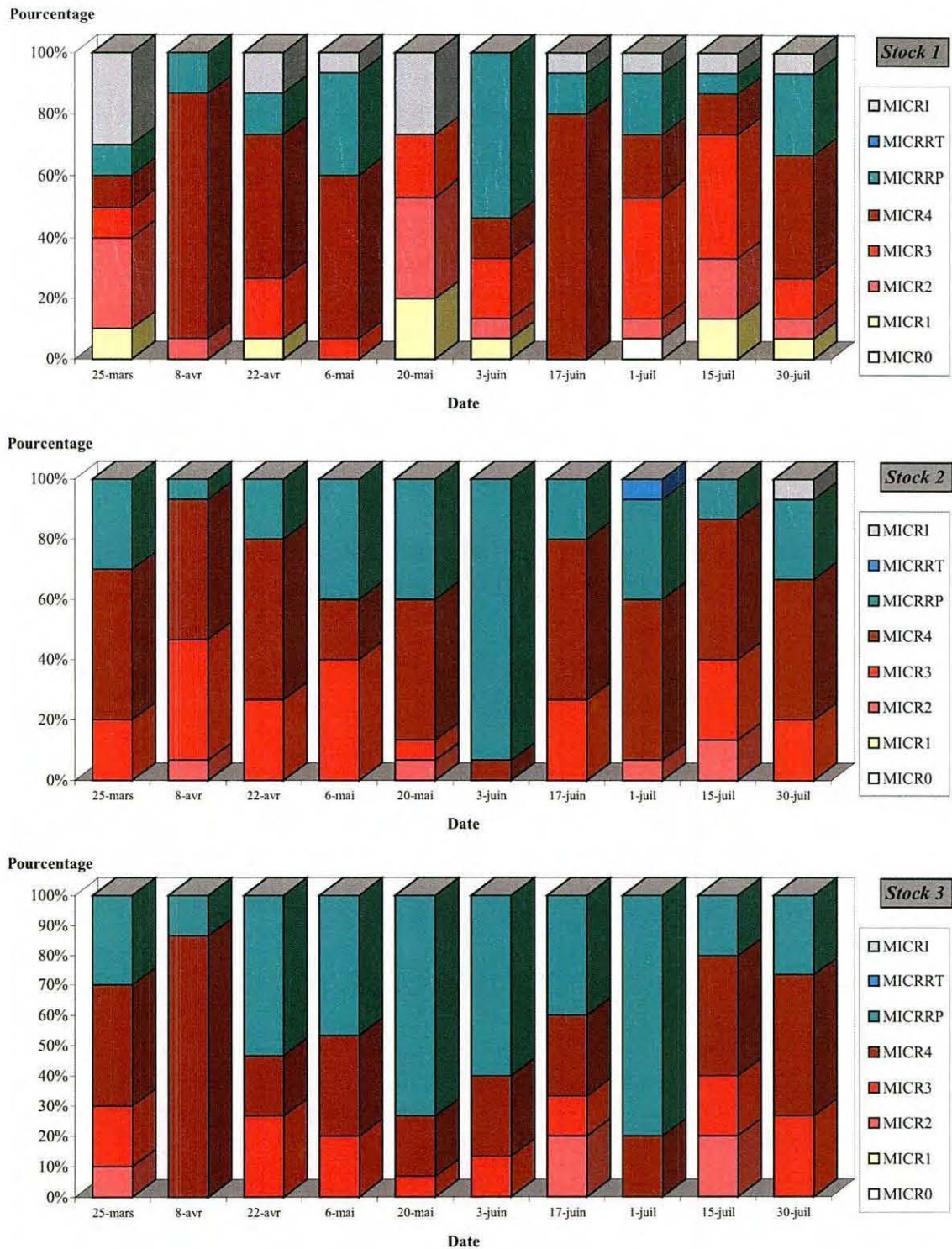


Figure 9 : Variation temporelle des stades de maturité microscopiques pour les trois stocks.

Les stades indéterminés sont fréquents chez les animaux du stock 1, compte tenu de la petite taille de la gonade. La présence de quelques stades de régression sur quasiment chacun des prélèvements suggère l'existence de pontes partielles et asynchrones (les intervalles de confiance des pourcentages de régression sont importants). Mais il est possible également qu'il y ait eu résorption des produits génitaux en raison de périodes défavorables. Jusqu'au 6 mai, le stade 4 est largement majoritaire (entre 50 et 80% des individus). Le prélèvement du 20 mai se caractérise par une brutale disparition des stades 4, au profit des stades 1, 2 et 3 (plus de 70%). De plus, le fort pourcentage de stades de régression partielle observé le 3 juin (plus de 50% ($26,59 < p < 78,73$) - Annexe 6) peut suggérer la possibilité d'une ponte. Après le 3 juin, les stades 4 reprennent une place prépondérante.

Pour le stock 2, les régressions sont permanentes comme pour le stock 1. Jusqu'au 20 mai, les stades 3 et 4 sont majoritaires (entre 50 et 90%). Une forte augmentation de la régression le 3 juin (93% des individus ($68,05 < p < 99,83$)) suggère l'existence d'une ponte fin mai. Après le 3 juin, les stades 3 et 4 reprennent une place importante.

L'évolution des stades microscopiques pour le stock 3 montre l'omniprésence des stades de régression et ne permet pas de définir d'éventuelles périodes de ponte.

L'étude des stades microscopiques montre la présence de pontes partielles et asynchrones et la possibilité d'une ponte à la fin mai.

4.2.2.3 Conclusion

L'analyse de l'évolution temporelle des stades de maturité sexuelle montre la possibilité d'une ponte après le 20 mai. Seule l'observation microscopique des huîtres du stock 3 semble plus difficile à interpréter. D'autre part, la présence quasi-permanente de régression indique soit la possibilité de pontes partielles asynchrones, soit des résorptions cellulaires sans qu'il y ait eu ponte.

4.2.3 VARIATION TEMPORELLE DU POURCENTAGE EN EAU

(Figure 10)

Pour le stock 1, le pourcentage en eau des différents organes varie entre 79 et 82% pour les branchies, entre 76 et 78% pour le muscle adducteur et le muscle pédieux, et entre 73 et 76% pour la gonade.

Pour les stock 2 et 3, le pourcentage en eau des différents organes varie peu au cours de la période considérée. Les pourcentages en eau sont un peu plus élevés pour les stocks 2 et 3, par rapport au stock 1.

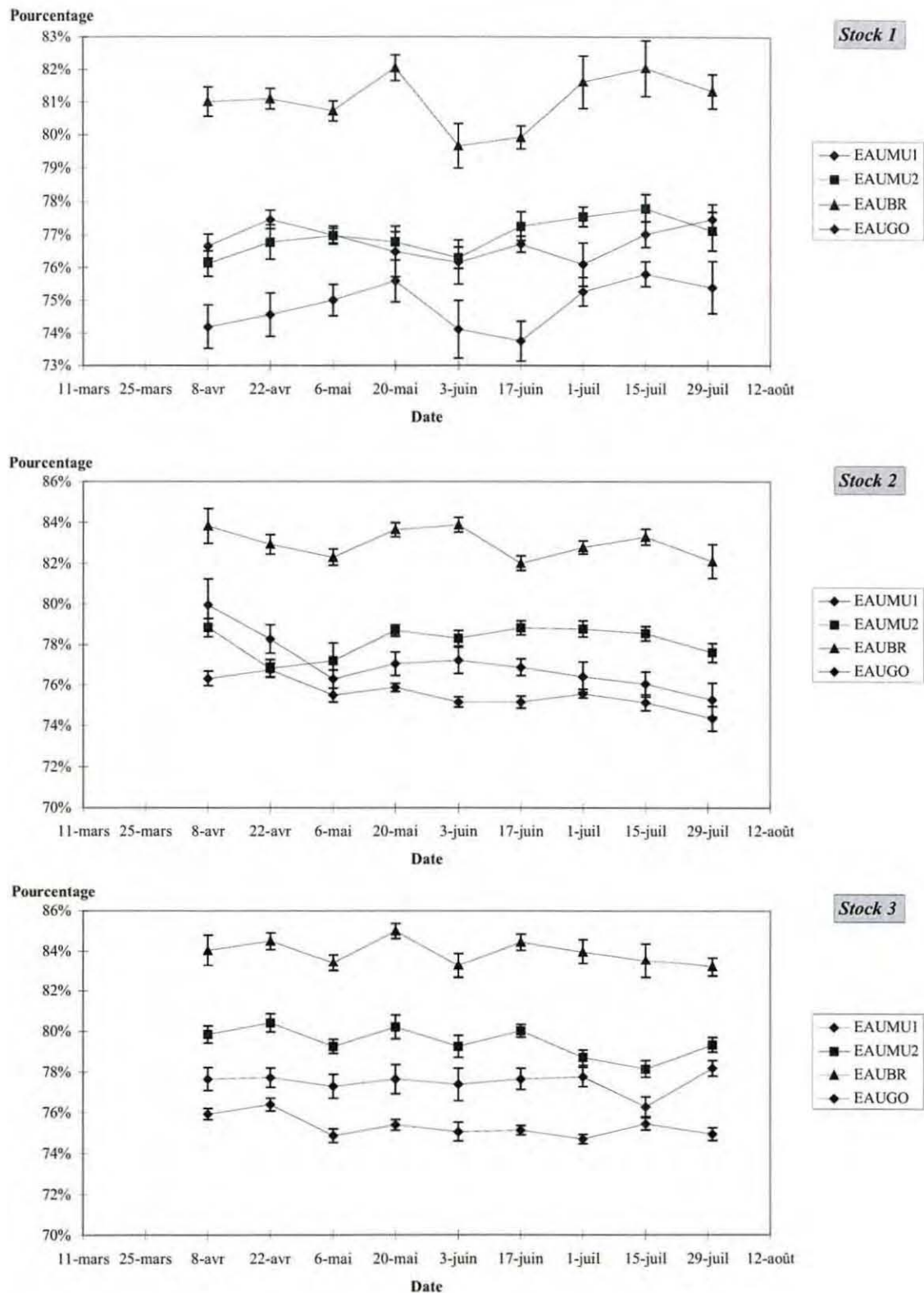
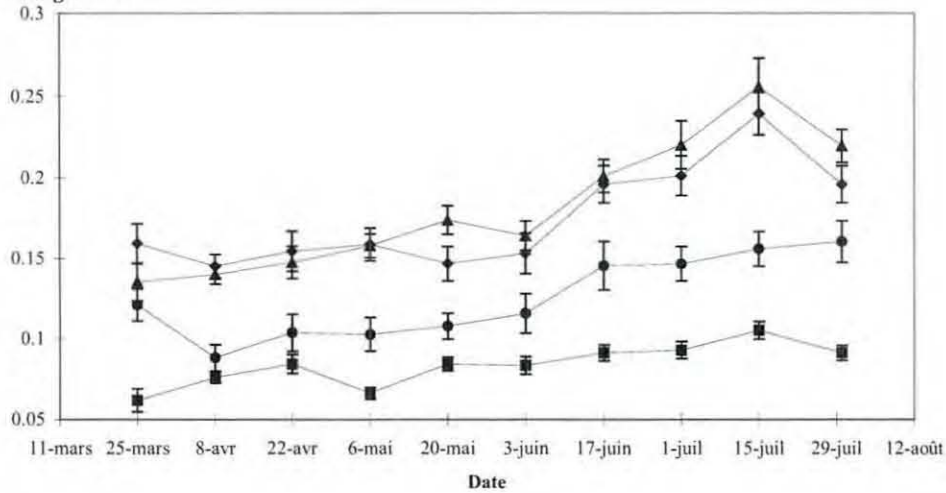


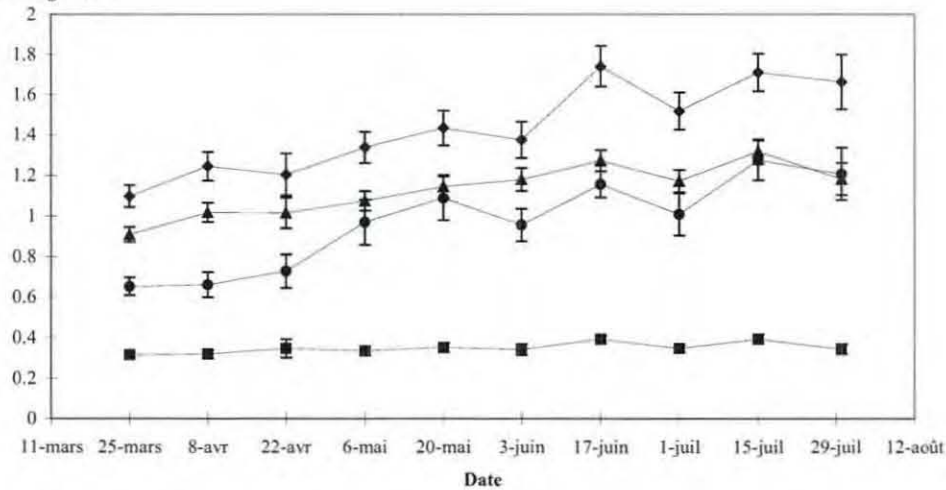
Figure 10 : Variation temporelle des % en eau des organes séparés pour les trois stocks.

4.2.4 LES POIDS DES DIFFERENTS ORGANES SECS

Poids en gramme



Poids en gramme



Poids en gramme

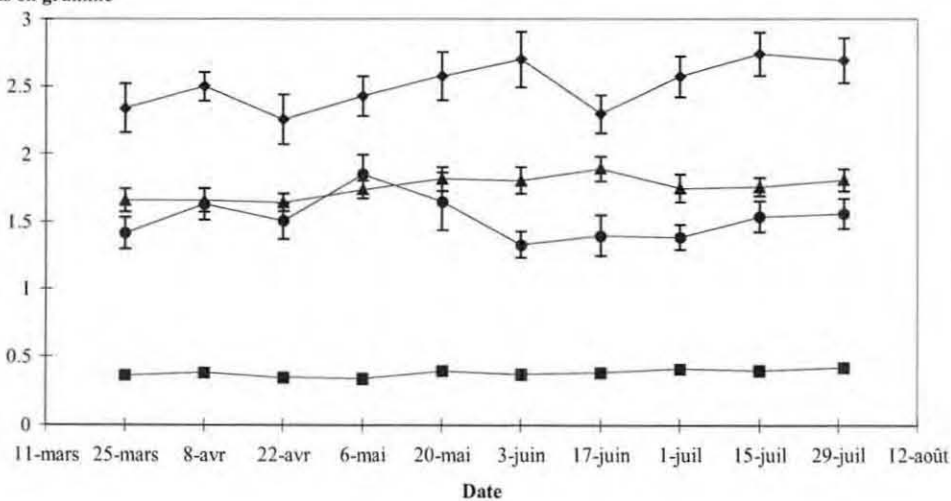


Figure 11 : Variation temporelle des poids de matière sèche des organes séparés pour les trois stocks.

Pour le stock 1, le poids des quatre organes subit une augmentation du début jusqu'à la fin du suivi. Le bilan entre ces deux instants est donnée dans le tableau 9:

Productions	Gain en grammes
Production de coquille - Pc	4,97
Production somatique - Pg	0,19
Muscle adducteur	0,036
Muscle pédieux	0,03
Branchies	0,084
Gonade+glande digestive	0,04

Tableau 9 : Bilan d'accroissement des organes chez les huîtres du stock 1 sur la période du 25 mars au 29 juillet.

Cependant, cette augmentation est constituée de deux phases :

- du 25 mars au 3 juin pendant laquelle les organes grandissent peu,
- après le 3 juin où la croissance augmente rapidement et le gain de poids est réalisé intégralement sur cette seconde période.

L'évolution du poids de la gonade sèche chez le stock 1 ne montre pas d'accident imputable à une ponte. Nous pouvons seulement remarquer que sur la période du 15 au 29 juillet, le poids de la gonade sèche reste stable alors que les poids secs des autres organes subissent un amaigrissement.

Pour le stock 2, les branchies et le muscle pédieux suivent une croissance lente mais régulière sur la période considérée. Par contre, le muscle adducteur et la gonade présentent des variations plus irrégulières. La gonade subit un accroissement important au cours du mois de mai (0,36 g), puis un amaigrissement de 0,13 g après le 20 mai. Une évolution similaire est à noter pour le muscle adducteur. Le bilan des productions sur la période est le suivant :

Productions	Gain en grammes
Production de coquille - Pc	21,57
Production somatique - Pg	1,42
Muscle adducteur	0,57
Muscle pédieux	0,03
Branchies	0,27
Gonade+glande digestive	0,55

Tableau 10 : Bilan d'accroissement des organes des huîtres du stock 2 sur la période du 25 mars au 29 juillet.

En ce qui concerne le stock 3, les organes présentent une croissance faible, voire nulle. Le poids de la gonade sèche subit un accident majeur : une forte baisse (0,32 g) sur la période allant du 20 mai au 3 juin, alors que parallèlement le poids du muscle adducteur sec reste

stable. De plus, cette phase est encadrée par deux périodes de développement gonadique. Le bilan des productions sur la période est le suivant :

Productions	Gain en grammes
Production de coquille - Pc	24,1
Production somatique - Pg	0,7
Muscle adducteur	0,35
Muscle pédieux	0,056
Branchies	0,15
Gonade+glande digestive	0,144

Tableau 11 : Bilan d'accroissement des organes du stock 3 sur la période du 25 mars au 29 juillet.

Pour l'ensemble des trois stocks, la gonade semble être un des organes (avec le muscle adducteur) animés de variations de biomasse non négligeables au cours du mois de mai. Ces variations sont imputables à une ponte synchrone probable surtout pour les individus âgés de plus de 2 ans.

4.2.5 VARIATION TEMPORELLE DES RAPPORTS GONADO-SOMATIQUES

4.2.5.1 Poids de gonade sèche / Poids de coquille sèche

(Figure 12)

Une augmentation de ce rapport signifie que le poids de la gonade sèche augmente plus rapidement que le poids de coquille sèche et constitue donc un indicateur de maturation.

Pour le stock 1, le rapport augmente sur deux périodes : du 8 au 22 avril et du 15 au 29 juillet. Cette hausse peut être indicatrice de périodes de maturation.

Pour le stock 2, le rapport augmente de façon importante du 8 avril au 20 mai, pouvant indiquer une forte maturation jusqu'à cette date.

Pour le stock 3, le rapport augmente puis présente un palier du 8 au 20 mai, pour chuter à partir du 3 juin. Le mois de mai peut être une période de maturation précédant une ponte.

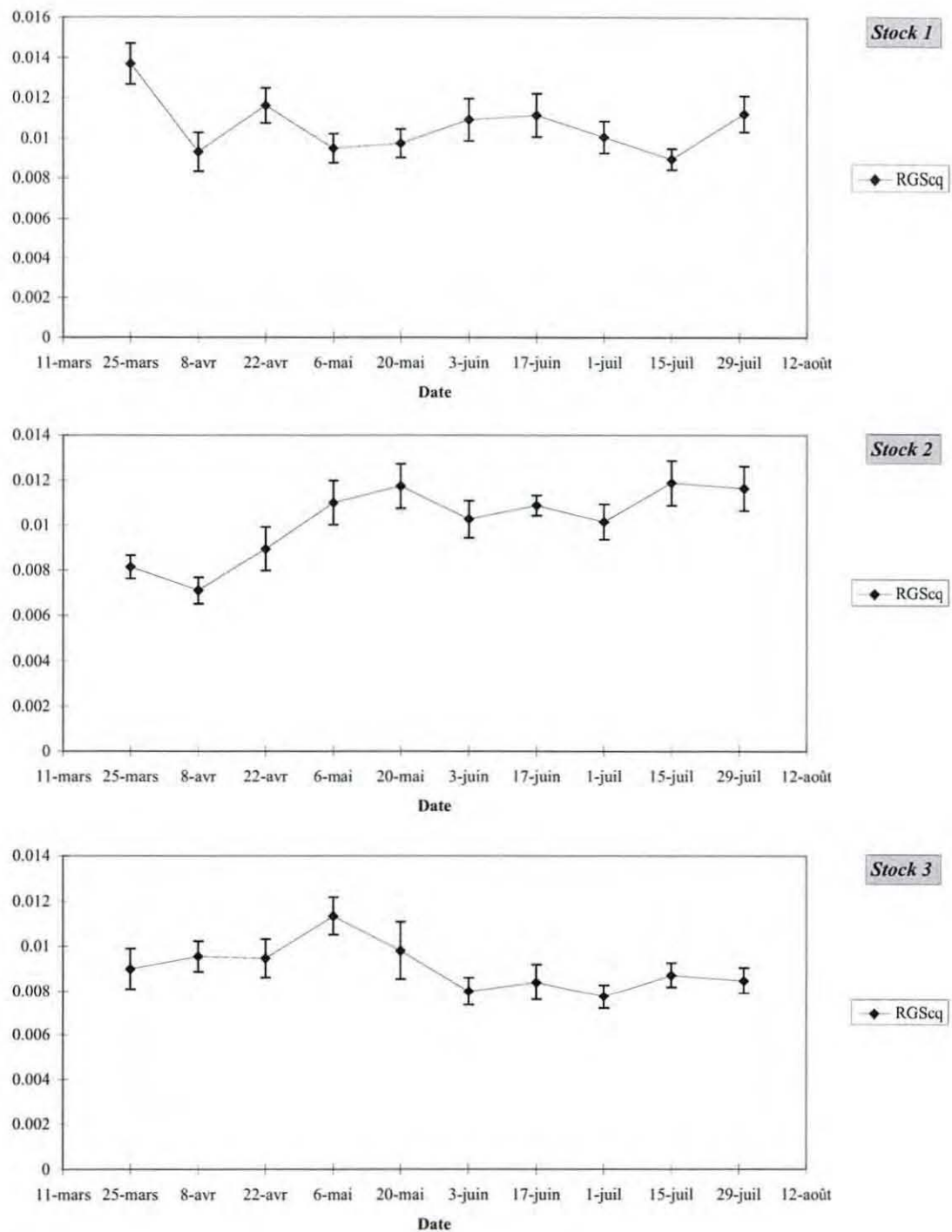


Figure 12 : Variation temporelle du rapport poids de chair sèche / Poids de coquille sèche pour les trois stocks.

4.2.5.2 Poids de gonade sèche / Poids de chair sèche

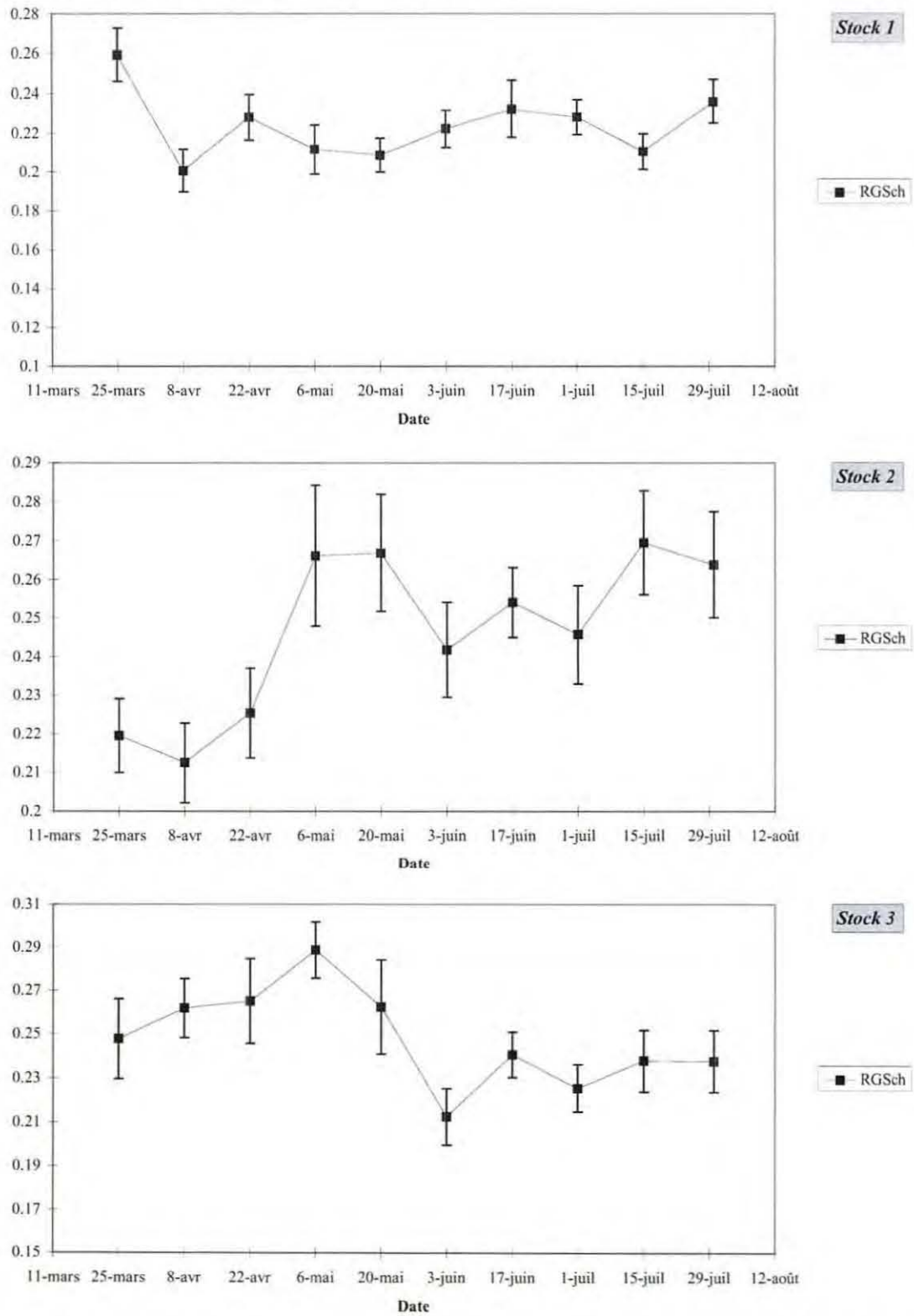


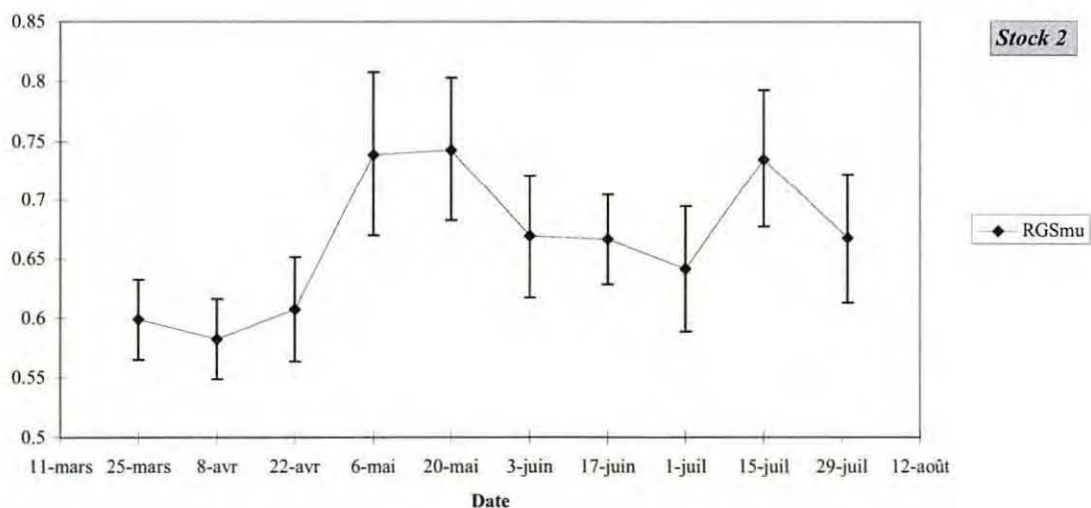
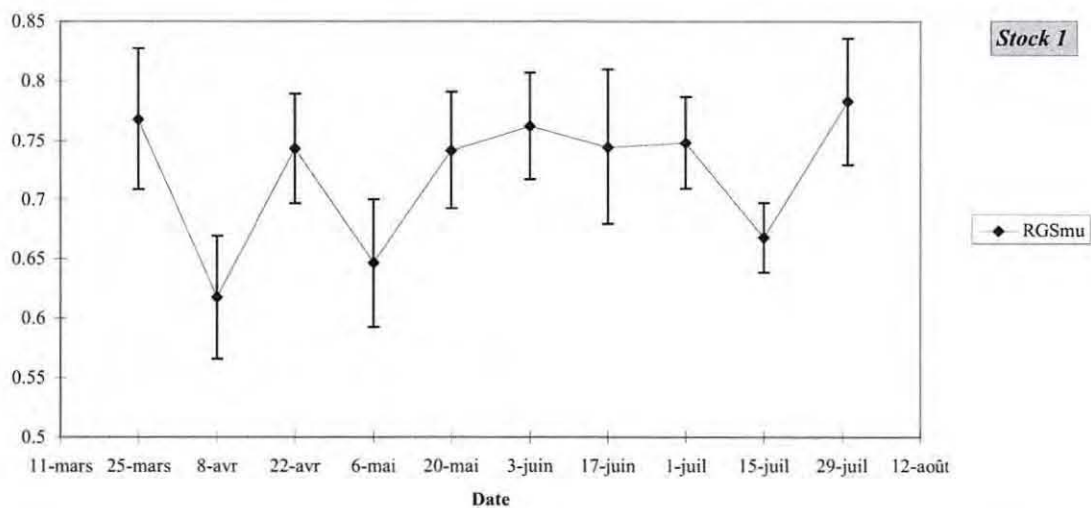
Figure 13 : Variation temporelle du rapport poids de gonade sèche / poids de chair sèche pour les trois stocks.

Pour le stock 1, le rapport augmente de façon significative sur deux périodes : du 8 au 22 avril (+0,027) et du 15 au 29 juillet (+0,025).

Pour le stock 2, on observe un fort accroissement du rapport sur la période du 8 avril au 6 mai (+0,05), suivie d'un palier jusqu'au 20 mai. Cette phase peut être indicatrice d'une maturation importante, d'autant plus qu'après le 20 mai, le rapport chute (-0,025), avant une nouvelle augmentation à partir du 3 juin. Une ponte est donc possible après le 20 mai.

Les mêmes variations sont observées pour le stock 3 : le rapport augmente globalement sur la période du 25 mars au 6 mai (+0,04), avant de chuter jusqu'au 3 juin (-0,08). L'hypothèse d'une ponte en mai est donc envisageable.

4.2.5.3 Poids de gonade sèche / Poids du muscle adducteur sec



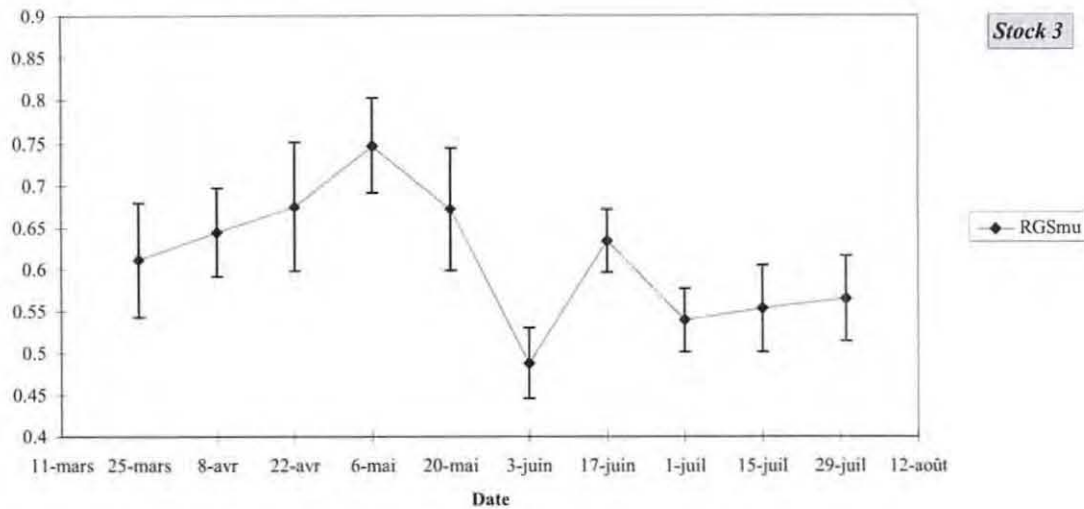


Figure 14 : Variation temporelle du rapport poids de gonade sèche / Poids du muscle adducteur sec pour les trois stocks.

L'évolution de ce rapport sur la période considérée est semblable à celle du rapport gonado-somatique étudié précédemment et ce pour les trois stocks.

4.2.5.4 Conclusion

Les deux rapports gonado-somatiques étudiés semblent être de bons indicateurs de la maturation. En effet, s'il reste difficile de conclure pour animaux du stock 1, il est cependant possible d'envisager une ponte fin mai pour les animaux des stocks 2 et 3. Ceci rejoint les remarques déjà faites précédemment.

4.2.6 VARIATION TEMPORELLE DES TAUX DE PROTEINES, LIPIDES, ET GLUCIDES TOTAUX

(Figure 15, Figure 16, Figure 17, Figure 18)

Les résultats obtenus sont à relativiser compte tenu du peu de points recueillis sur les P, L, G. De plus, les taux de protéines, lipides et glucides totaux ne peuvent être considérés comme des indicateurs de ponte. Ils peuvent uniquement permettre une confirmation des résultats obtenus sur les variables précédemment étudiées.

Stock 1 : On constate des tendances à l'augmentation des protéines (+9%) dans la gonade, une diminution des lipides (-0,5%) dans le muscle, avant le 20 mai, une diminution des niveaux de glucides totaux dans les deux organes (-1,5% pour le muscle et -4% pour la gonade), ainsi qu'une diminution du glycogène dans le muscle.

Stock 2 : On observe une augmentation des protéines (+5,9%) dans la gonade. Globalement, les niveaux de lipides restent stables sur la période. Les pourcentages de glucides totaux et de glycogène diminuent dans la gonade (respectivement -9,5 et -4,3%) et augmentent dans le muscle adducteur (respectivement +2,3 et +7,6%).

Stock 3 : Une tendance à l'augmentation des protéines (+7,6%) et du glycogène (7,7%) dans la gonade avant le 20 mai peut indiquer une maturation. Aucune conclusion n'est possible sur l'évolution des lipides et des glucides totaux.

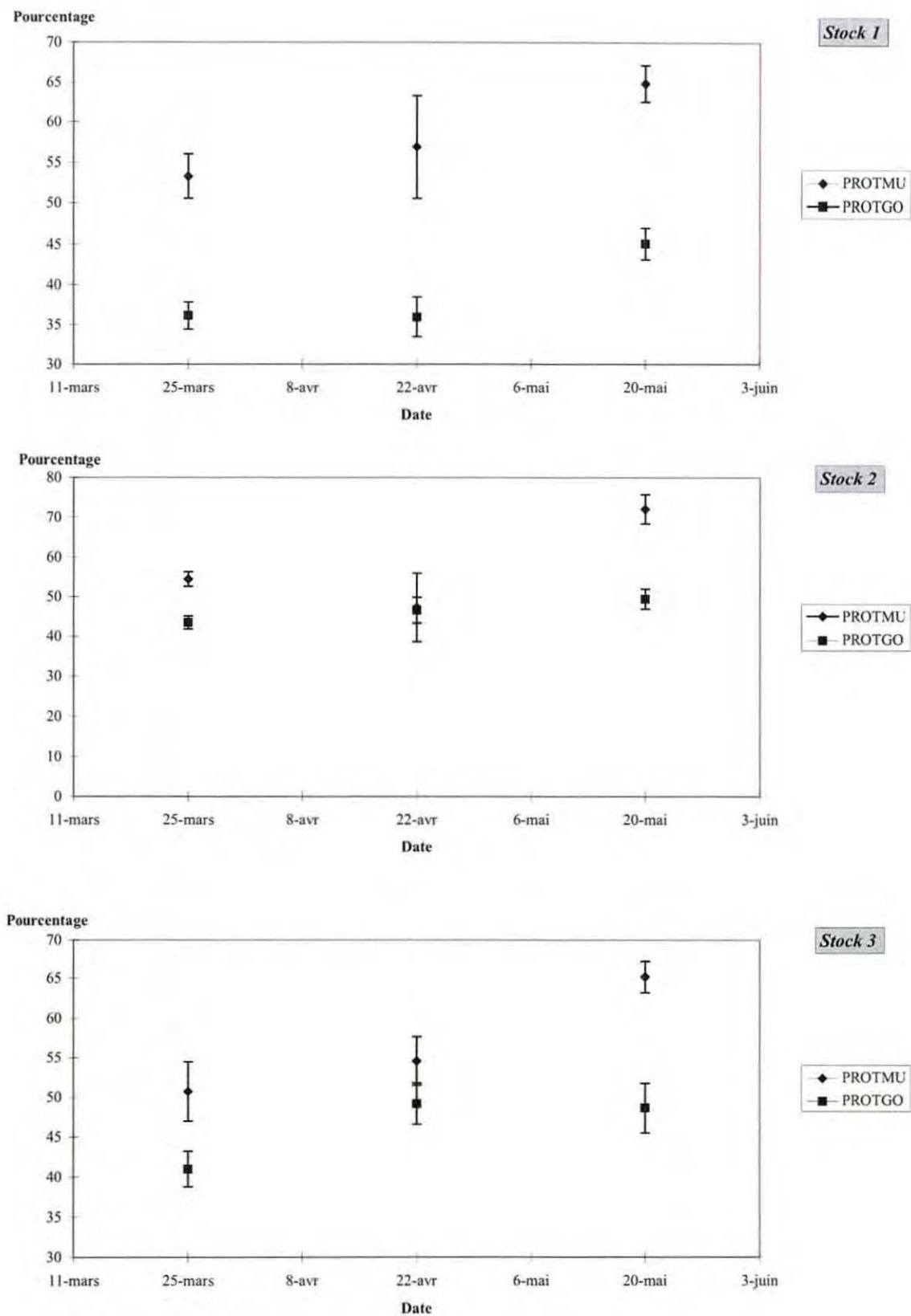


Figure 15 : Variation temporelle du taux de protéines dans la gonade et le muscle adducteur pour les trois stocks.

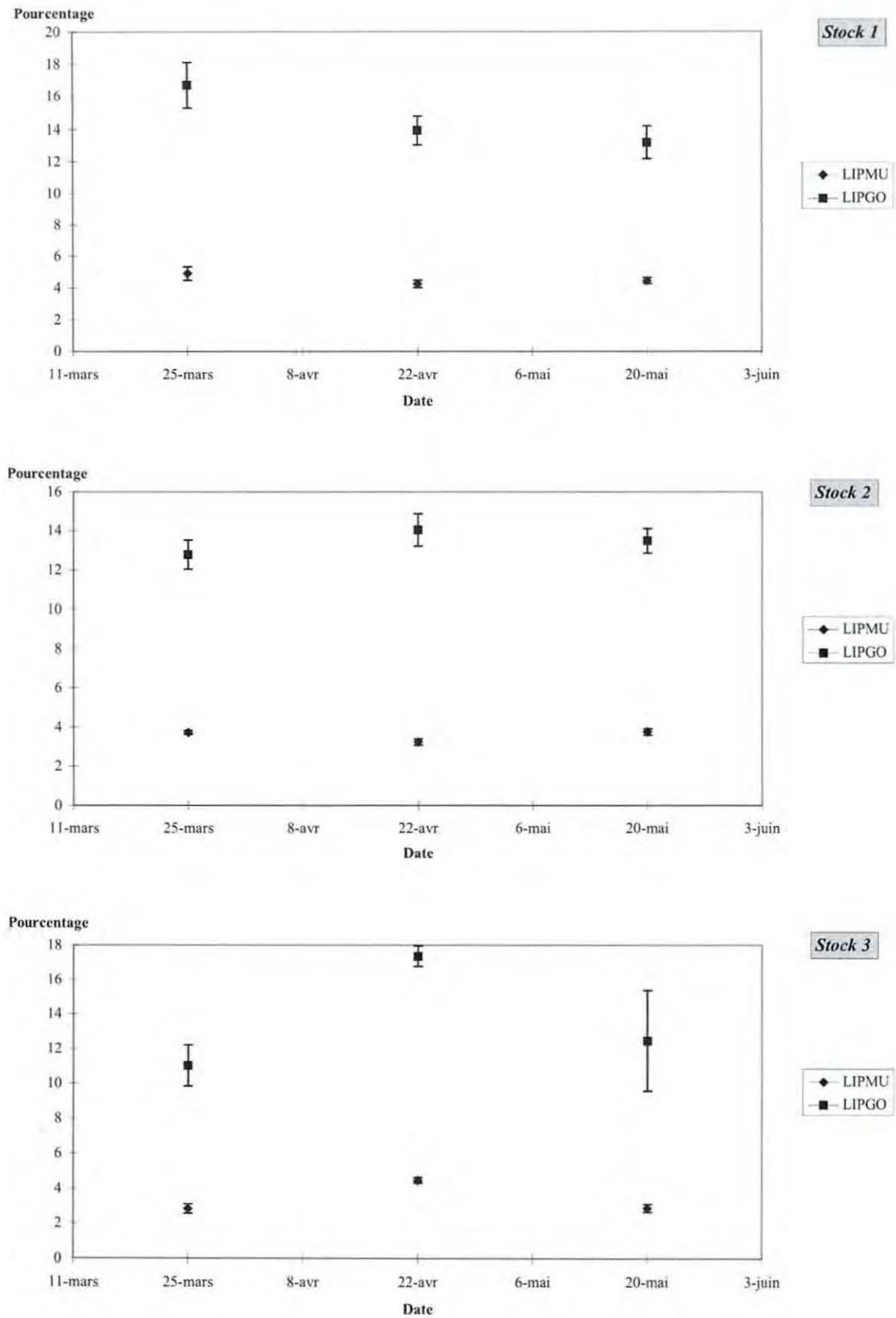


Figure 16 : Variation temporelle du taux de lipides dans la gonade et le muscle adducteur pour les trois stocks.

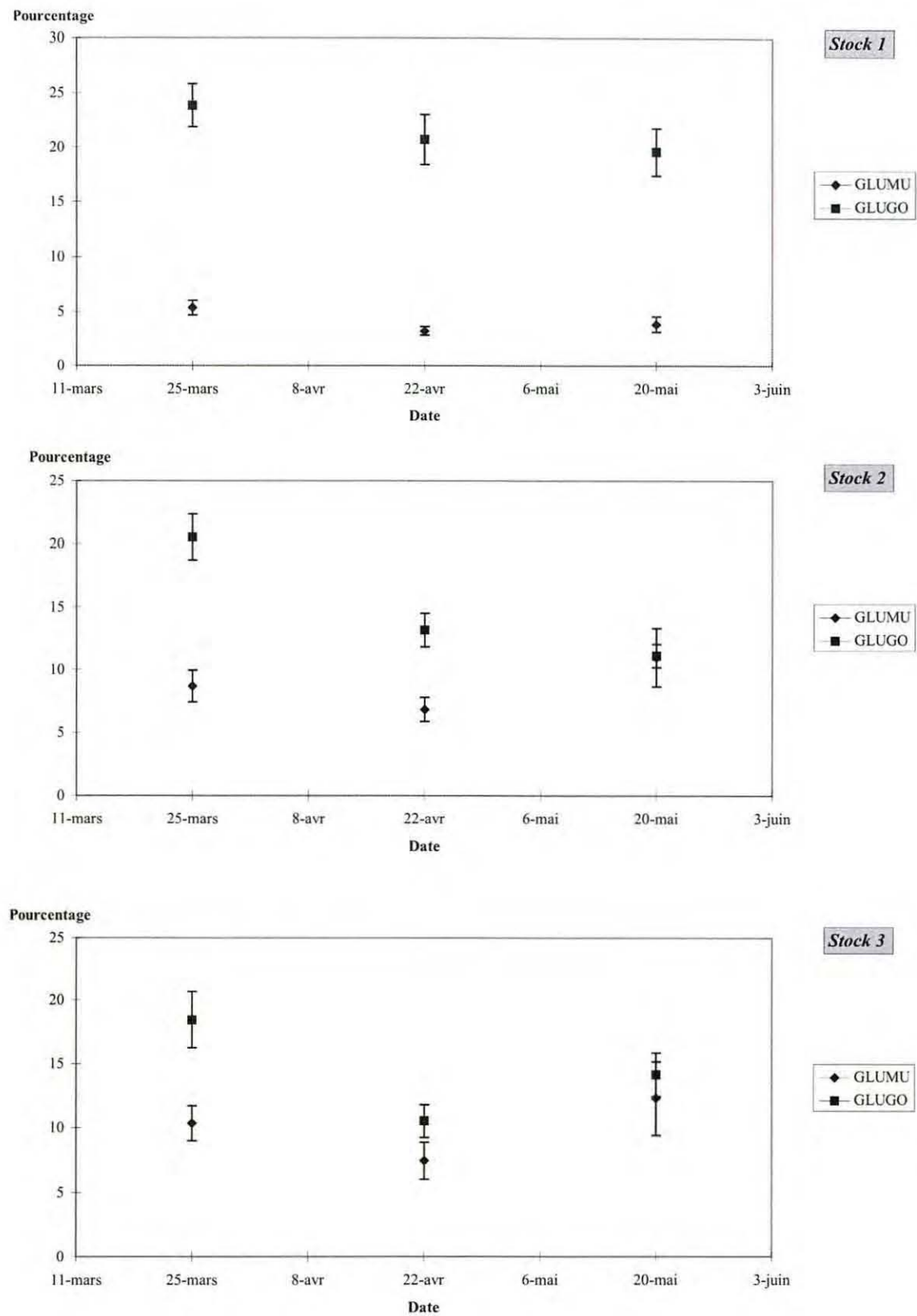


Figure 17 : Variation temporelle du taux de glucides dans la gonade et le muscle adducteur pour les trois stocks.

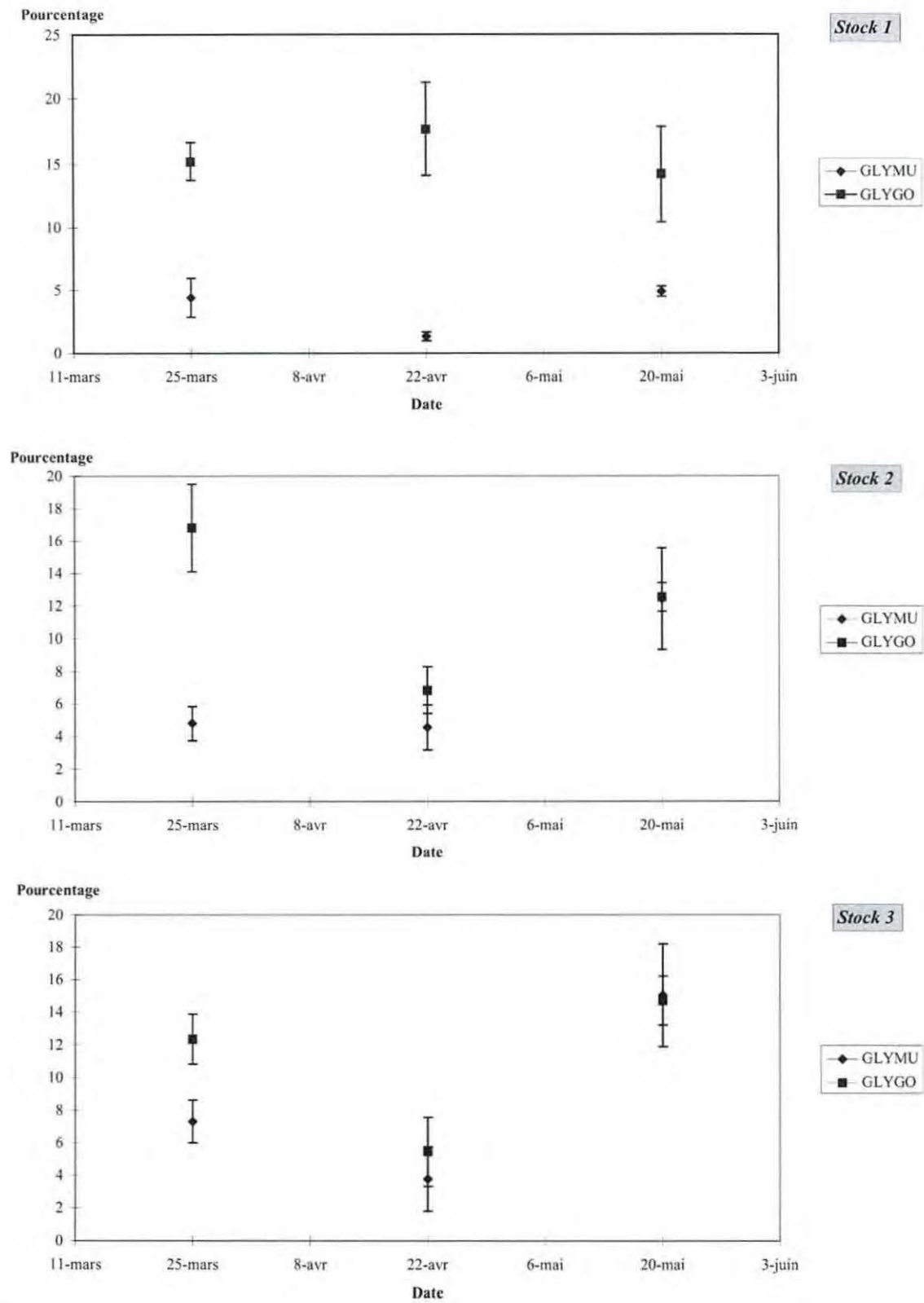


Figure 18 : Variation temporelle du taux de glycogène dans la gonade et le muscle adducteur pour les trois stocks.

4.2.7 CONCLUSION SUR LES PERIODES DE PONTE

D'après les données précédentes, il ressort une observation majeure : la possibilité d'une ponte importante et synchrone à la fin du mois de mai. Cette remarque est essentiellement visible sur les stocks 2 et 3. Les conclusions sur le stock 1 sont plus délicates, bien que certains indicateurs confirment l'hypothèse d'une ponte fin mai. D'autre part, la présence de nombreuses régressions montrent l'existence de pontes partielles et asynchrones ou de phénomènes de résorption cellulaire sans qu'il y ait eu ponte.

4.2.8 ESTIMATION IN SITU D'UN EFFORT DE PONTE

Suite aux résultats observés précédemment, un effort de ponte est calculé, pour les stocks 2 et 3, sur la période du 20 mai au 3 juin. Aucun effort de ponte n'est visible sur le stock 1.

4.2.8.1 *Sex-ratio*

Quand la détermination est possible, les animaux du stock 1 s'avèrent systématiquement être des mâles. La proportion de femelles augmente avec l'âge, les premières femelles apparaissant à l'âge de 2 ans.

Sur la période de ponte considérée, le stock 1 n'est constitué que de mâles, le stock 2 compte 5% de femelles le 20 mai et 2,5% le 3 juin, et le stock 3 compte respectivement 17,5 et 20 % de femelles.

L'estimation *in situ* de l'effort de ponte sera donc un effort surtout valable pour une population constituée de mâles.

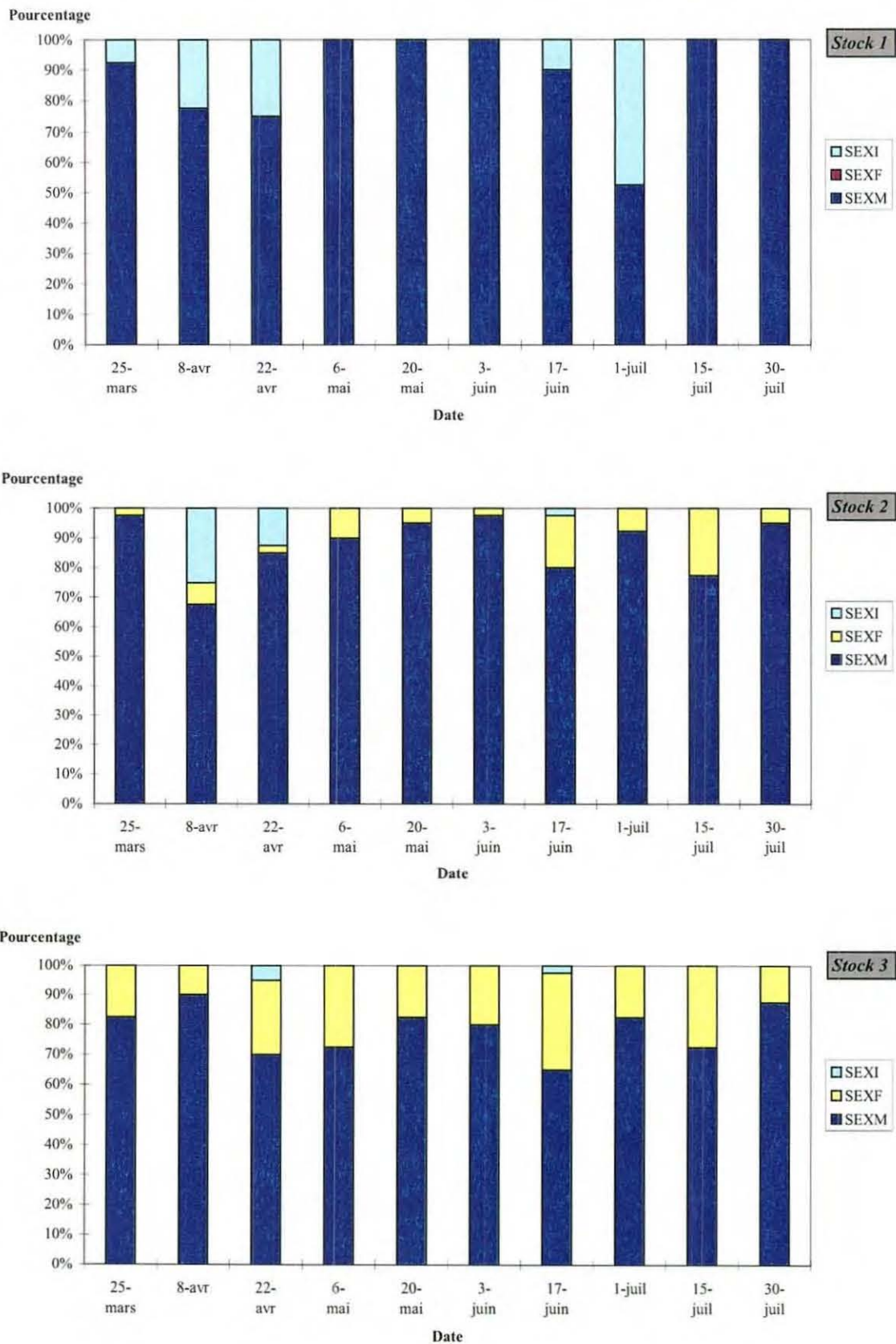


Figure 19 : Variation temporelle du sex-ratio pour les trois stocks.

4.2.8.2 Estimation d'un effort de ponte

- Estimation en perte de poids sec :

Pour le stock 2 comme pour le stock 3, le taux de croissance instantanée (terme de correction) a été calculé par différence entre les données du 22 avril et du 20 mai.

On obtient un poids de gonade sèche théorique de 1,2 g pour le stock 2, soit une perte de 310 mg.

Le poids de gonade sèche théorique pour le stock 3 est de 1,7 g, soit une perte de 390 mg.

- Conversion en énergie de cette perte :

On estime à 7 130 Joules l'énergie perdue lors de la ponte pour le stock 2 et 8 970 Joules pour le stock 3.

L'estimation de l'effort de ponte donne donc les résultats suivants :

Pr (1an) \approx 0,
Pr (2ans) \approx 0,31 g ou 7 130 Joules,
Pr (3ans) \approx 0,39 g ou 8 970 Joules,
sur la période du 25 mars au 29 juillet.

4.2.9 BILAN ENERGETIQUE DES PRODUCTIONS SUR LA PERIODE CONSIDEREE

Il est possible, par cette étude, d'établir un bilan énergétique des productions de coquille (dont nacre), de chair et de gamètes, sur la période considérée et pour chacun des stocks. Ceci permettra de calculer un effort de reproduction, ER, pour les stocks 2 et 3.

4.2.9.1 Stock 1 :

Productions	Valeur en grammes	Coefficient de conversion (J/mg)	Valeur en Joules
Production de coquille - Pc	4,97	0,717	3 563
Production somatique - Pg	0,19		3 527
Muscle adducteur	0,036	19,53	703
Muscle pédieux	0,03	19,53	586
Branchies	0,084	17,24	1 448
Gonade+glande digestive	0,04	19,75	790
Production de gamètes - Pr	0	23	0

Tableau 12 : Bilan énergétique des productions du stock 1.

4.2.9.2 Stock 2 :

Production	Valeur en grammes	Coefficient de conversion (J/mg)	Valeur en Joules
Production de coquille - Pc	21,57	0,717	15 465
Production somatique - Pg	1,42		26 715
Muscle adducteur	0,57	19,63	11 190
Muscle pédieux	0,03	19,63	589
Branchies	0,27	17,51	4 728
Gonade+glande digestive	0,55	18,56	10 208
Production de gamètes - Pr	0,31	23	7 130
ER1 (Pr / (Pg+Pr))			0.21
ER2 (Pr / (Pg+Pr+Pc))			0.14

Tableau 13 : Bilan énergétique des productions du stock 2.

4.2.9.3 Stock 3 :

Productions	Valeur en grammes	Coefficient de conversion (J/mg)	Valeur en Joules
Production de coquille - Pc	24,1	0,717	17 280
Production somatique - Pg	0,7		13 406
Muscle adducteur	0,35	20,07	7 024
Muscle pédieux	0,056	20,07	1 124
Branchies	0,15	16,86	2 529
Gonade+glande digestive	0,144	18,95	2 729
Production de gamètes - Pr	0,39	23	8 970
ER1 (Pr / (Pg+Pr))			0.4
ER2 (Pr / (Pg+Pr+Pc))			0.22

Tableau 14 : Bilan énergétique des productions du stock 3.

La répartition énergétique de chacune des productions est différente suivant l'âge de l'huître. Sur la période étudiée, les animaux du stock 1 favorisent leur croissance en chair et en coquille à hauteur de 50% de l'énergie pour chacune des productions. L'effort de reproduction est considéré comme nul ou peu important.

Les huîtres du stock 2 privilégient surtout leur croissance en chair (54% du bilan). L'effort de reproduction représente 14% du bilan.

Les huîtres du stock 3 présentent un bilan énergétique mieux réparti autour des trois productions. 43% de l'énergie vont à la production de coquille, 34% à la production de chair et 23% pour l'effort de reproduction.

Deux efforts de reproduction ont été calculés, l'un d'entre eux incluant la production de coquille (ER2) et l'autre non (ER1). En effet, si la production de coquille est souvent négligée, il semble difficile d'oublier cette production dans le cas de l'huître perlière. L'effort de reproduction est plus important chez les animaux de 3 ans par rapport aux 2 ans. L'effort de reproduction est considérablement diminué lorsqu'on intègre la production de coquille.

4.2.10 CONCLUSION GENERALE

Le suivi *in situ* permet d'aboutir à deux conclusions concernant la reproduction de *Pinctada margaritifera* :

- l'existence de pontes partielles et asynchrones sur toute la période et pour chacun des stocks ou la possibilité de résorption cellulaire sans qu'il y ait eu ponte.

- la présence d'une ponte importante et synchrone à la fin du mois de mai, qui a permis le calcul d'un effort de ponte *in situ* pour les huîtres de 2 et 3 ans. Les huîtres de 3 ans pondent plus que des huîtres de 2 ans. Aucune ponte importante n'a pu être déterminée chez les huîtres d'un an. Il est donc possible de donner une première estimation de l'effort de reproduction de l'espèce en fonction de son âge :

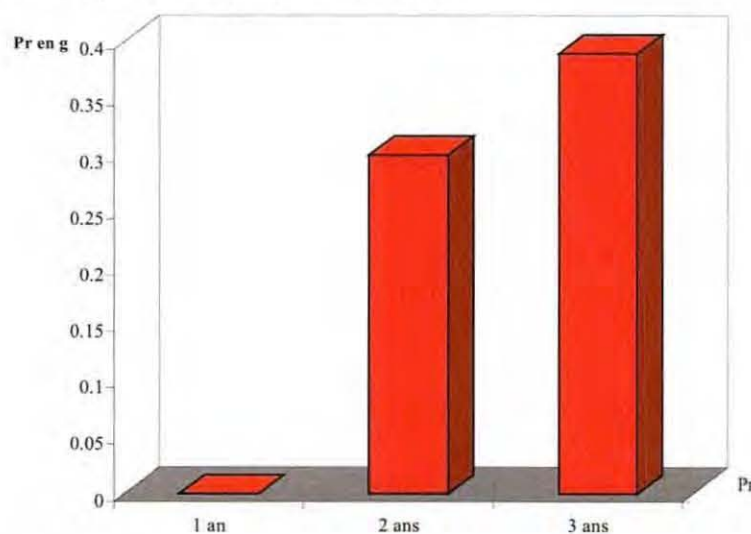


Figure 20 : Evolution de la production de gamètes (Pr) en fonction de l'âge.

4.3 DISCUSSION

4.3.1 CRITIQUE DU PLAN D'ECHANTILLONNAGE

Le plan d'échantillonnage est basé sur un pas de temps bimensuel. Pour des considérations pratiques, notamment la longueur des analyses, c'est le pas minimum qu'il était possible de réaliser. D'autre part, au regard d'expériences déjà effectuées, l'étude de la reproduction imposait un pas de temps inférieur à un mois.

Concernant la taille des échantillons, là encore, des considérations pratiques ont empêché le traitement d'échantillons de taille plus importante.

Le tirage aléatoire des échantillons au sein du lagon n'élimine pas d'éventuels effets locaux. En effet, les huîtres de chaque stock sont réunies en chapelets de 10 individus suspendus à des filières. Chaque échantillonnage consiste à prélever, pour chaque stock, 4 chapelets. La possibilité d'effet "chapelets" reste donc présente, mais cet effet est très certainement négligeable au regard des évolutions temporelles, véritable objet de ce travail. Par ailleurs, ce type de prélèvement facilite le travail en plongée.

L'impact des manipulations (brossage, prélèvement, transport...) n'a pas été pris en compte.

4.3.2 CRITIQUE DES VARIABLES UTILISEES

4.3.2.1 *Les stades de maturité macroscopiques*

Une nouvelle échelle macroscopique a été définie à partir des échelles de THIELLEY (1993) et TRANTER (1958), et de nos propres interprétations. Cette échelle, commune aux mâles et femelles, est fondée sur le taux de remplissage de la gonade. Elle traduit donc plutôt une notion **quantitative** de l'état de la gonade.

STADE 0 : La gonade est complètement vide, la glande digestive est entièrement visible par transparence.

STADE 1 : Des ensembles de tubules sont visibles mais encore peu développés, formant seulement un début d'irisation à la surface de la glande digestive. Celle-ci est par ailleurs parfaitement visible. La partie de gonade se situant à la base du pied est encore peu développée.

STADE 2 : La glande digestive est à moitié recouverte par les irisations mais la gonade est moyennement remplie. La partie de la gonade au niveau du pied commence à se développer.

STADE 3 : La glande digestive est bien recouverte, seulement encore visible par endroits, la gonade est presque pleine. La partie de la gonade à la base du pied est moyennement développée.

STADE 4 : La glande digestive est maintenant complètement recouverte, la gonade est pleine, turgescence. Il en est de même pour la partie de la gonade au niveau du pied.

THIELLEY (1993) définit six stades de développement macroscopique, contre quatre pour TRANTER (1958). L'échelle a été ramenée à cinq stades afin de simplifier la détermination et d'homogénéiser le nombre des stades avec l'échelle microscopique. Elle rejoint l'échelle précédemment établie par MILLOUS (1980) bien qu'avec des critères de détermination un peu différents. Le critère de couleur observé par THIELLEY n'a pas été conservé, car il n'a pas été systématiquement observé lors de nos expériences et de plus, il ne permet pas de différencier deux stades.

L'échelle macroscopique ne permet pas de déterminer les stades de régression, cependant un critère peut amener à déceler une éventuelle régression. La gonade peut apparaître très gonflée mais une légère pression peut permettre d'évacuer de l'eau, vidant ainsi la gonade. Dans ce cas, on choisit plutôt un stade 1, 2 voire 3 mais qui est souvent associé à une régression.

D'autre part, nos expérimentations ont permis de constater l'existence possible d'une autre méthode permettant de définir un stade de développement macroscopique. En appliquant une légère pression sur la gonade, on peut permettre l'évacuation d'une certaine quantité de gamètes. Les produits génitaux ainsi obtenus sont étalés sur boîte de Petri. Suivant la quantité de gamètes évacuée, on peut définir un stade plus ou moins avancé dans le développement :

Aux stades 0 et 1, très peu de gamètes sont émis,

aux stades 2 et 3, une quantité plus importante est obtenue,

au stade 4, la gonade perd énormément de produits génitaux, en régression, beaucoup d'eau est évacuée lors de cette manipulation.

Cette même méthode peut être utilisée à la détermination du sexe. En effet, les produits génitaux femelles apparaissent franchement granuleux et très colorés alors que les gamètes mâles apparaissent non granuleux et de couleur blanche. Cependant, cette méthode, si elle est sûre pour la détermination du sexe, ne peut pas encore être prise en compte pour les stades de maturité puisqu'elle n'a pas été systématiquement réalisée lors de nos expériences et que des conditions standards de mesure n'ont pas été définies.

4.3.2.2 Les stades de maturité microscopiques

Comme en macroscopie, l'échelle utilisée, au cours de nos expérimentations, pour la détermination microscopique des stades de maturité sexuelle, a été définie à partir de l'échelle précédemment établie par THIELLEY (1993). Cependant, des modifications y ont été apportées après l'analyse de l'échelle fournie par TRANTER (1958) et les interprétations de nos propres coupes histologiques. La détermination microscopique traduit une notion qualitative de l'état de la gonade.

Les techniques histologiques sont celles utilisées par THIELLEY (1993).

LES MALES

La détermination de 4 stades de développement repose sur un critère essentiel, la proportion des différents types cellulaires, auquel s'ajoutent deux autres critères de positionnement des cellules germinales dans les tubules et la forme des tubules.

STADE 1 : Prédominance des spermatogonies et des spermatocytes (1, 2) par rapport aux spermatozoïdes dans les proportions 90% - 10%. Les spermatozoïdes sont plutôt positionnés au centre des tubules, mais globalement les types cellulaires sont mélangés. Les tubules sont ovoïdes ou ronds.

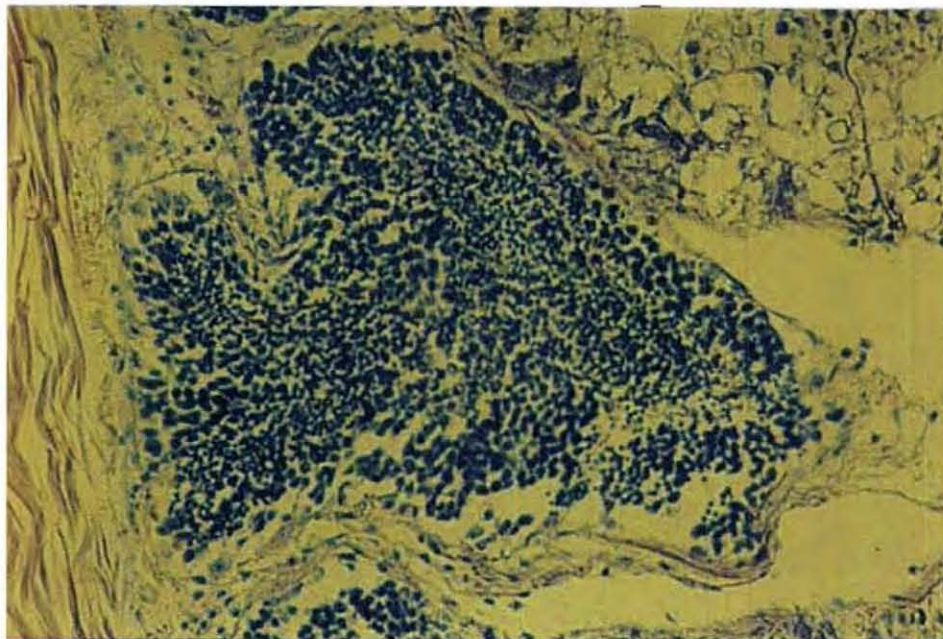


Photo 3 : Stade 1 mâle, grossissement 250.

STADE 2 : Autant de spermatogonies+spermatocytes (1, 2) que de spermatozoïdes. Les spermatozoïdes sont situés dans la lumière du tubule alors que les autres types cellulaires plus jeunes sont en position externe. Les tubules sont ovoïdes ou ronds.

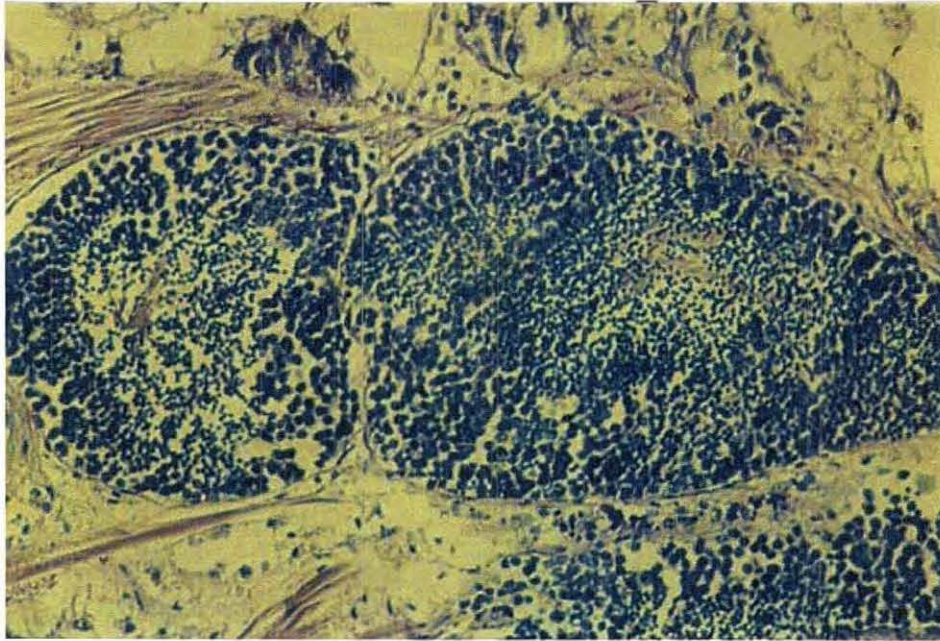


Photo 4 : Stade 2 mâle, grossissement 250.

STADE 3 : Prédominance des spermatozoïdes (75%) par rapport aux spermatogonies+spermatocytes (1, 2) (25%). On peut observer très nettement une couronne extérieure formée par les cellules plus jeunes. Les tubules s'arrondissent nettement.

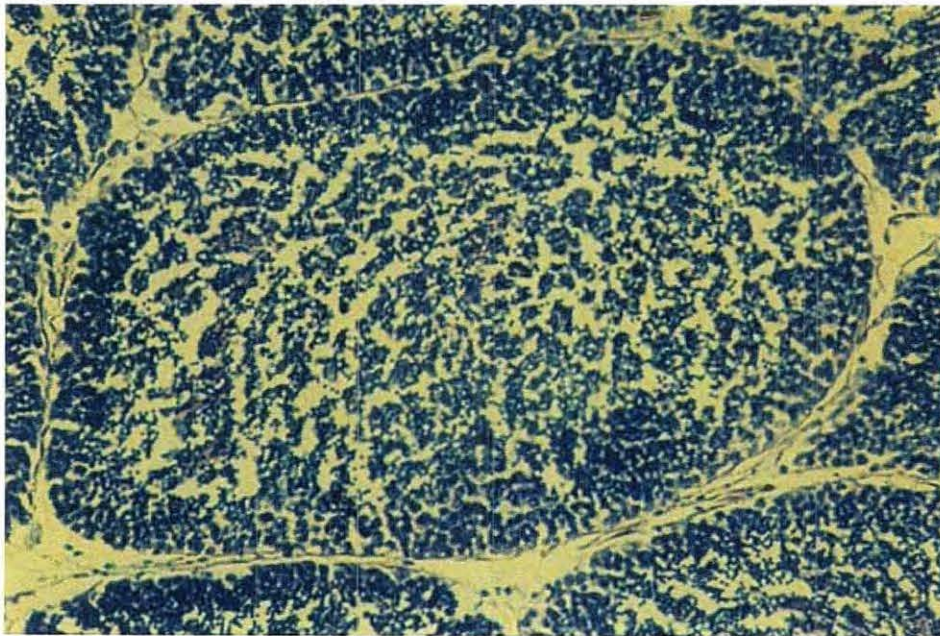


Photo 5 : Stade 3 mâle, grossissement 250.

STADE 4 : Les spermatozoïdes deviennent largement prédominants (90%) par rapport aux spermatogonies+spermatocytes (10%). Certains tubules ne sont plus ronds mais ont

tendance à fusionner pour former de grands amas de spermatozoïdes. Dans ce cas, il est impossible de délimiter les contours des tubules. La couronne extérieure de cellules plus jeunes n'est pas toujours présente, elle devient discontinue. Il est possible de trouver quelques tubules partiellement vides et donc un début de régression.

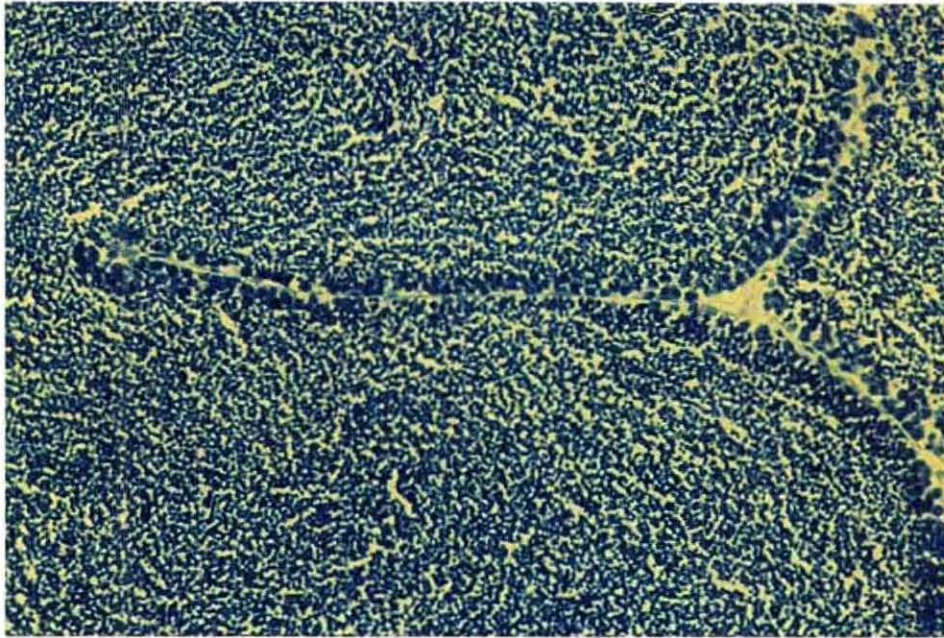


Photo 6 : Stade 4 mâle, grossissement 250.

Deux critères permettent de déterminer une régression : d'abord l'existence d'un vide entre la paroi du tubule et les premières cellules germinales ainsi que la présence de tubules rétractés.

REGRESSION PARTIELLE : Le vide représente près de 20% de l'espace intra-tubulaire en régression partielle, mais ce pourcentage est variable, dépendant du niveau de la régression. Les tubules ne sont plus arrondis mais forment des insinuations. Ces deux critères sont ceux principalement utilisés par THIELLEY (1993).

Souvent, dans les tubules en régression, les cellules germinales sont plus espacées les unes des autres, il n'y a plus cet effet de remplissage que l'on peut observer au stade 4.

REGRESSION TOTALE : Ce stade n'a jamais été observé lors de nos expériences. Les tubules ont disparus pour laisser la place à quelques amas de sperme résiduel noyés dans une masse de tissu conjonctif. On estime le vide à 90% mais ce vide a entièrement été remplacé par du tissu conjonctif. Il est souvent possible d'observer, associée à une régression, un début de spermatogenèse. Il est donc difficile d'affecter des pourcentages aux différents types cellulaires dans le cas d'une régression car ceux-ci sont très variables

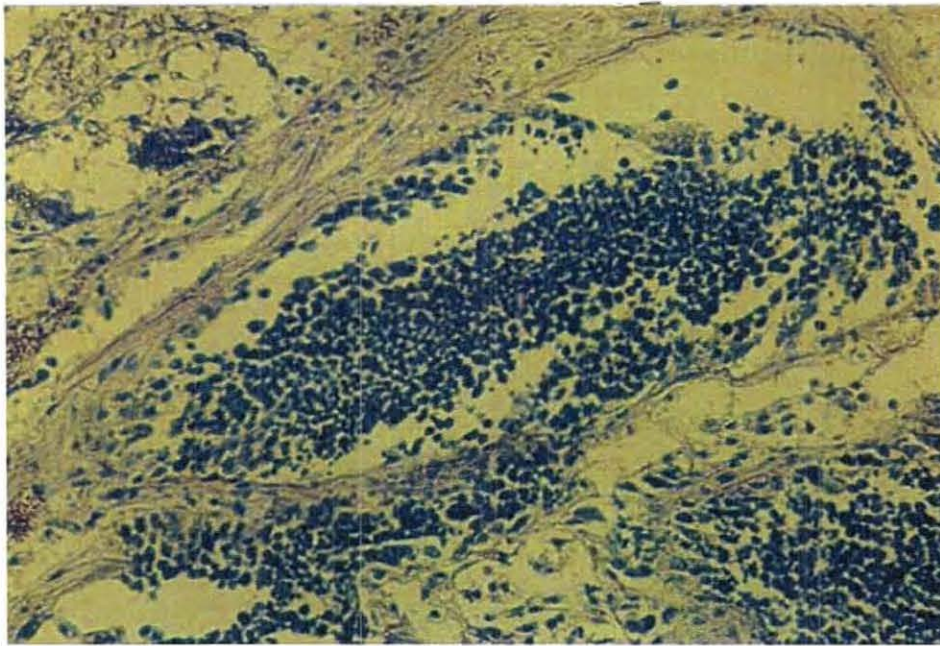


Photo 7 : Stade de régression partielle mâle, grossissement 250.

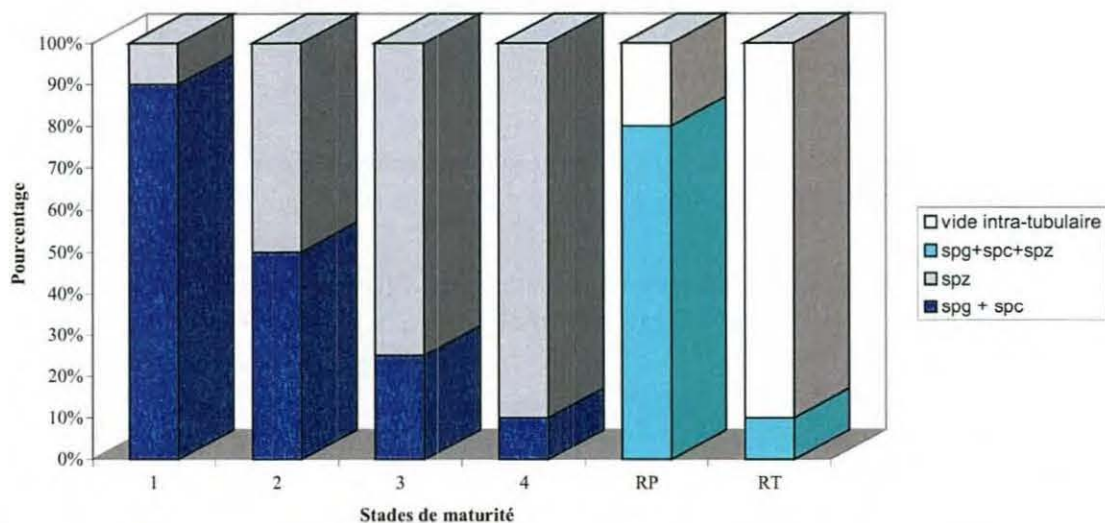


Figure 21 : Proportions des différents types cellulaires suivant le stade de maturité chez le mâle.

THIELLEY (1993) définit quatre stades de développement des gonades, contre cinq pour TRANTER (1958). Lors de cette étude, 4 stades ont été conservés afin de simplifier la détermination. Les stades de développement 1 et 2, définis par TRANTER, ont été regroupés car basés sur une différenciation des spermatogonies et des spermatocytes (1, 2) qu'il ne nous a pas été possible d'observer avec la technique histologique utilisée.

Parallèlement à l'échelle, certaines remarques, apparaissant comme des critères utilisés par l'un ou l'autre des deux auteurs cités précédemment, peuvent être prises en compte pour argumenter le choix de tel stade plutôt qu'un autre :

- *le développement du tissu conjonctif* : il est vrai que plus le stade est avancé dans la maturation, moins il y a de tissu conjonctif entre les tubules. Cependant, ce n'est finalement pas un critère retenu systématiquement car chez des huîtres de 1 an, il y a forcément moins de tubules que chez les animaux plus âgés. Le tissu conjonctif y est généralement bien développé, malgré la présence possible de tubules en stade 4.

- *La taille des tubules* : c'est la même remarque que pour le tissu conjonctif. Généralement, plus le stade est avancé, plus les tubules sont volumineux. Mais, il est possible de rencontrer des petits tubules remplis exclusivement de spermatozoïdes, donc en stade 4. Ce critère n'est donc pas systématiquement vérifié.

- *Les flagelles des spermatozoïdes* : TRANTER (1958) affirme qu'ils ne peuvent être observés aux stades 1 et 2 ; seulement quelques uns sont visibles au stade 3 (ils apparaissent rose en microscopie) et quasiment tous sont visibles au stade 4. Ces observations n'ont pas été confirmées par nos analyses. Des flagelles ont pu être observés en stade 2 tandis qu'ils sont souvent absents au stade 4, notamment au niveau des tubules qui ont fusionné, quand on a de grands amas de spermatozoïdes. Par contre, il est certain qu'ils seront invisibles en stade 1 puisqu'on a une majorité de spermatogonies+spermatocytes. Selon TRANTER, lorsque les tubules sont matures et prêts à émettre leurs gamètes, les flagelles des spermatozoïdes prennent une orientation centripète. Souvent, les flagelles forment un cercle dans le tubule avec au centre du cercle les têtes de spermatozoïdes. Parfois, ils prennent effectivement une orientation centripète. Cependant, ce critère ne peut pas être pris systématiquement en compte puisqu'on ne peut véritablement associer une orientation particulière à un stade particulier.

Deux stades de régression ont été déterminés par THIELLEY (1993) et trois par TRANTER (1958). Deux stades ont été conservés lors de cette étude, un stade de régression partielle et un stade de régression totale, là encore dans un but de simplification.

TRANTER (1958) se base sur un autre critère pour déterminer une régression et son intensité : la présence de phagocytes et, suivant le nombre de ces phagocytes, il définit des stades plus ou moins avancés dans la régression. Selon cet auteur, il existe deux types de cellules phagocytaires intra-tubulaires (trois types de cellules intra-tubulaires en tout mais deux seulement sont connues pour avoir une activité phagocytaire) :

- *les cellules de type A* : qui sont des cellules granuleuses ou amibocytes, les plus communes, avec un ou plusieurs pseudopodes. Leur taille varie de 6 à 8 μ (soit à peu près la taille d'un spermatogonie). La taille du noyau varie de 2,5-3,5 μ (contre 5 μ pour le spermatogonie), il est ovale et souvent positionné en périphérie. On peut observer dans le cytoplasme des granules jaunâtres ou jaunes grisâtres qui donnent à ces cellules leur couleur caractéristique et donc un moyen de les reconnaître. Ces cellules sont souvent agrégées en une masse comprimée autour des résidus de la ponte. Il ne fait aucun doute, pour TRANTER, que ces cellules aient une activité phagocytaire. Ces cellules sont plus fréquemment rencontrées chez les mâles.

- *les cellules de type B* : qui sont des cellules hyalines (non granuleuses). Le noyau occupe la moitié du volume cellulaire, est placé en position centrale, tandis que le volume cytoplasmique est variable. Le noyau est central, rond, ovale ou parfois un peu allongé, avec un diamètre moyen de 3 μ m. Ce type de cellules est plus répandu chez les femelles.

Chez les mâles, lorsque la ponte est incomplète, les tubules se remplissent de cellules de type A qui ingèrent les spermatozoïdes résiduels. Dans les cas rares où la ponte n'a pas eu lieu, c'est alors la production entière de sperme qui est résorbée par ces mêmes cellules.

Ces cellules phagocytaires n'ont pas été observées sur nos lames, en microscopie simple, avec une coloration au GIEMSA. Les tissus analysés par TRANTER (1958) ont été colorés par de l'hématoxyline ou du crystal violet et ont subi une contre-coloration à l'éosine. Cette méthode de coloration topographique met en évidence les éléments nucléaires.

THIELLEY (1993) n'utilise pas les phagocytes pour déterminer les stades de régression. Cependant, cet auteur remarque la présence d'hémocytes à fonction macrophagique qui correspondraient aux cellules phagocytaires définies précédemment par TRANTER (1958). THIELLEY (1993) met en évidence ces cellules en microscopie électronique à transmission, après la réalisation de coupes ultra-fines et une coloration au bleu de toluidine boraté.

LES FEMELLES

Pour les femelles, quatre critères permettent de déterminer 4 stades de développement :

- la proportion des différents types cellulaires ;
- l'importance du tissu conjonctif (dans ce cas ne se pose plus le problème des animaux plus jeunes puisqu'on ne trouve des femelles qu'à partir des 2 ans) ;
- la forme des tubules ;
- la taille des tubules.

STADE 1 : Les tubules ne sont pas distincts, mais les cellules germinales sont plus ou moins dispersées dans le tissu conjonctif qui est très abondant. La gonade montre à 80% des ovogonies ainsi que des ovocytes 1 et 2. Il est possible d'observer quelques ovocytes 3 ou 4.

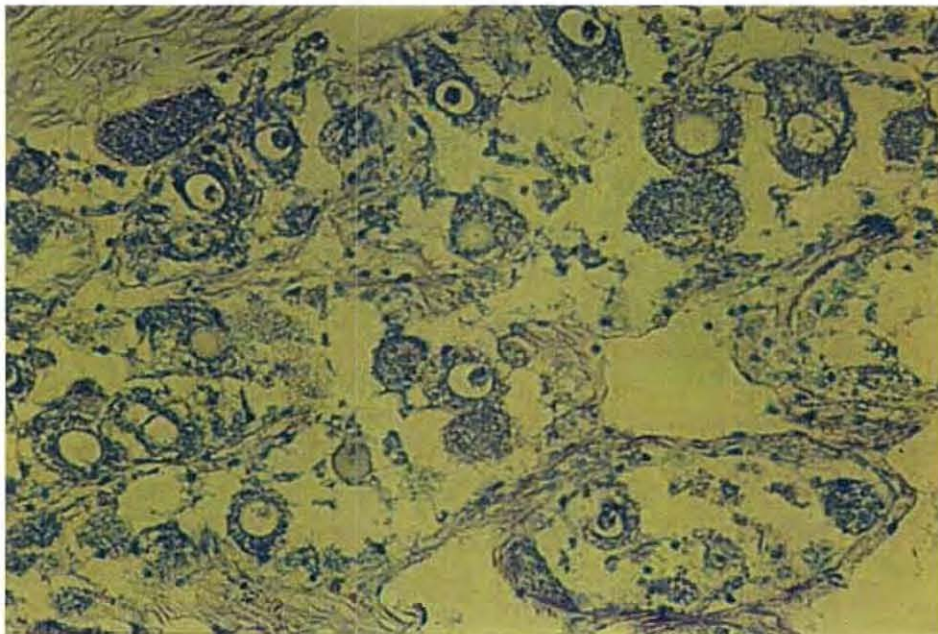


Photo 8 : Stade 1 femelle, grossissement 250.

STADE 2 : Le tissu conjonctif est encore développé. Les tubules commencent à se former, bien qu'étant encore très petits, comprenant à 50% des ovocytes 1, 2 et 50% des ovocytes 3, 4. Quelques ovocytes atrétiques sont parfois rencontrés.

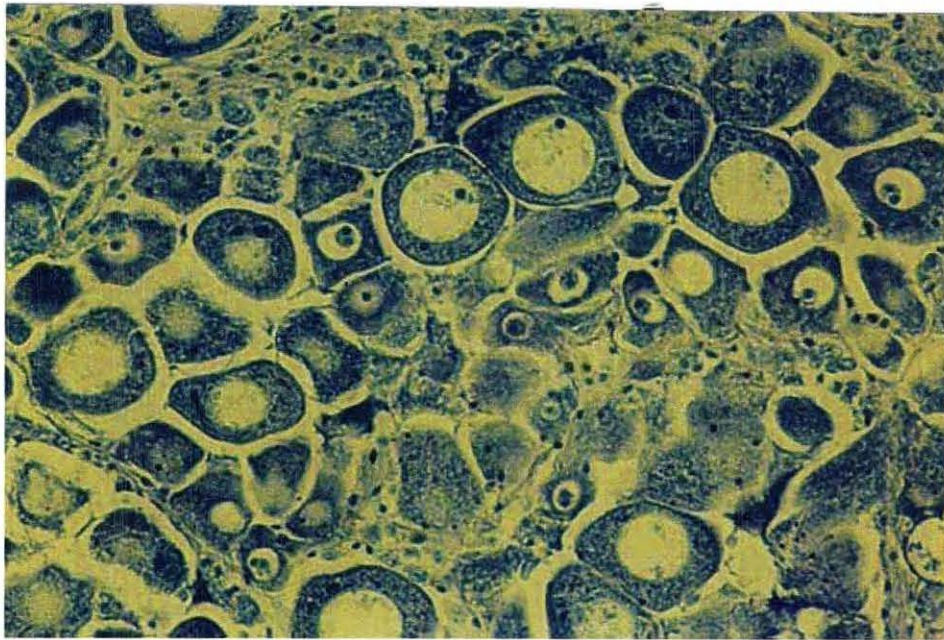


Photo 9 : Stade 2 femelle, grossissement 250.

STADE 3 : Les tubules sont maintenant plus volumineux, de forme ovoïde ou ronde, les contours en sont bien délimités. On n'observe presque plus de tissu conjonctif. Quelques ovocytes 2, 3 sont possibles mais à 80%, il s'agit d'ovocytes 4 attachés à la paroi et d'ovocytes libres. Ces deux types cellulaires sont présents en quantités égales. Les ovocytes atériques sont de plus en plus fréquents.

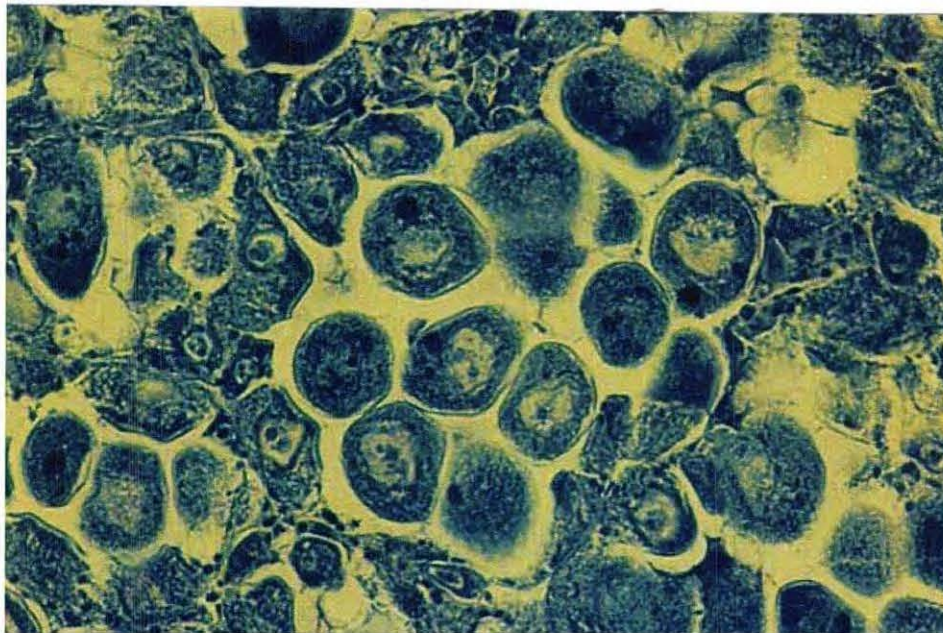


Photo 10 : Stade 3 femelle, grossissement 250.

STADE 4 : Le tissu conjonctif est inexistant. Les ovocytes matures constituent 99% des cellules germinales présentes ; ils sont collés les uns aux autres, pratiquement tous détachés de la paroi tubulaire (on considèrera que près de 90% des ovocytes sont libres). Les ovocytes atériques sont très fréquents. Les tubules sont ovoïdes ou ronds, plus volumineux qu'en stade 3.

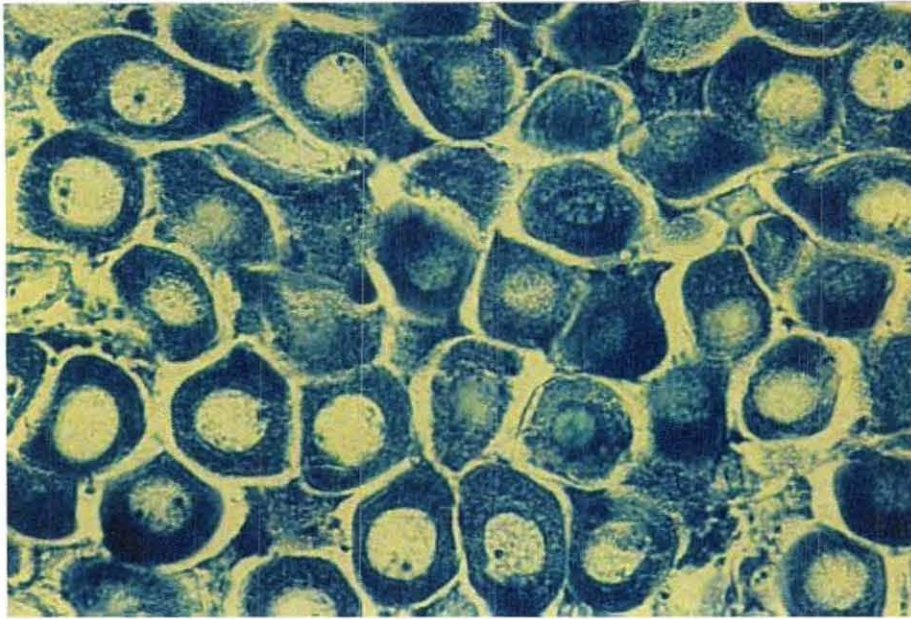


Photo 11 : Stade 4 femelle, grossissement 250.

REGRESSION PARTIELLE ET TOTALE : La régression s'exprime par des tubules qui ont l'air d'avoir explosé. Ils se sont ouverts par le centre, formant des vides intra-tubulaires (les mêmes vides présents chez les mâles et dans les mêmes proportions). De plus, on observe une forte proportion d'ovocytes dégénérésents. Selon TRANTER (1958), ces processus de dégénérescence sont dus, en partie, à des phénomènes d'autolyse, mais la résorption serait également permise par les phagocytes de type B. La régression totale est observée quand on ne trouve plus que quelques ovocytes matures ou en cours de dégénérescence dans du tissu conjonctif. Il n'y a alors plus de tubules. Il est fréquent de trouver associée à une régression, une nouvelle ovogenèse avec la présence de cellules jeunes (ovogonies, ovocytes 1, 2). Dans ce cas, il n'y a plus vraiment de tubules mais les différents types cellulaires se côtoient mélangés dans le tissu conjonctif de nouveau très abondant.

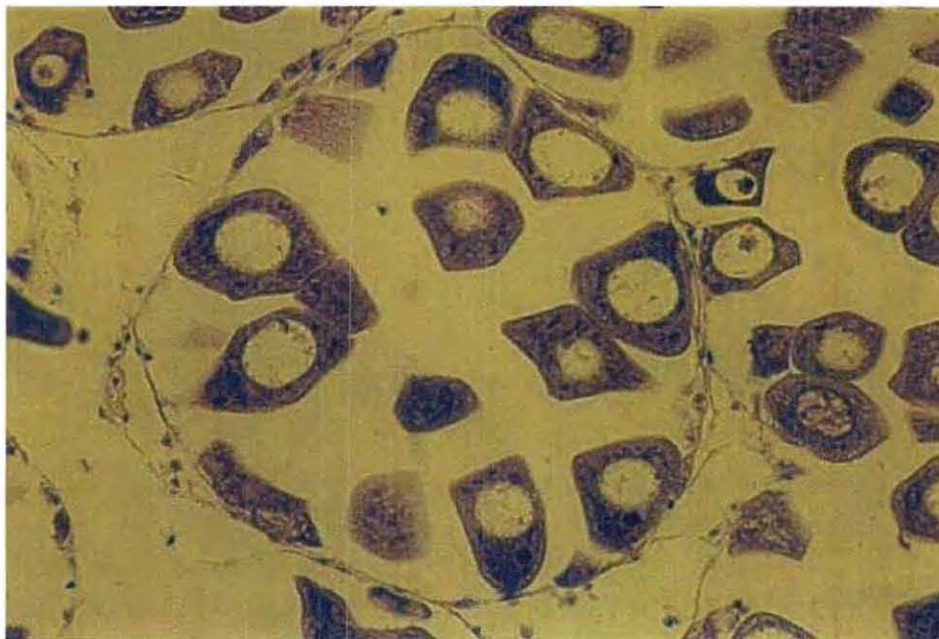


Photo 12 : Stade de régression partielle femelle, grossissement 250.



Photo 13 : Stade de régression totale femelle, grossissement 250.

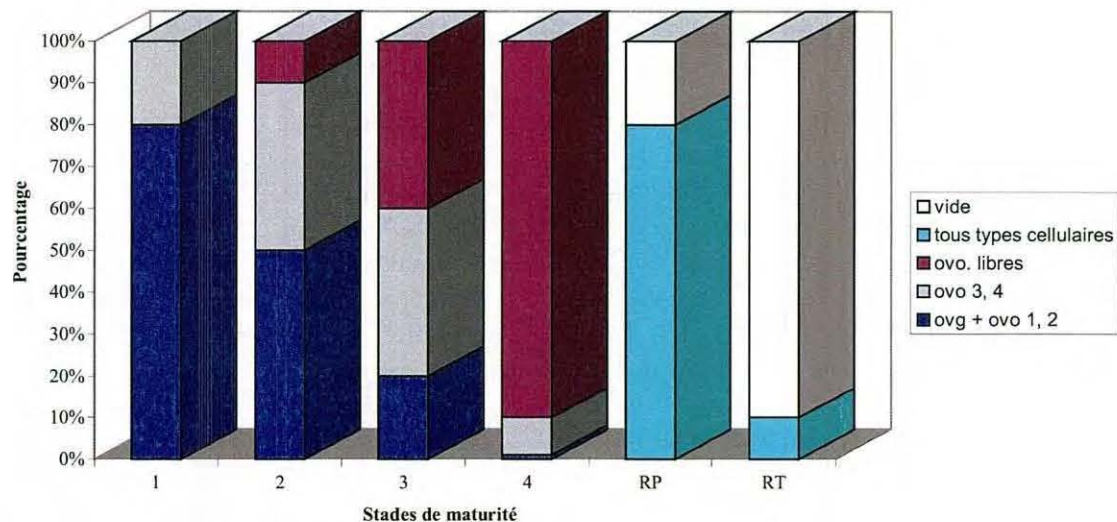


Figure 22 : Proportions des différents types cellulaires suivant la stade de maturité chez la femelle.

Comme pour les mâles, THIELLEY (1993) détermine trois stades de développement et deux stades de régression contre respectivement cinq et trois pour TRANTER (1958). Par simplification et dans un souci d'homogénéité avec l'échelle définie pour les mâles, l'échelle de THIELLEY a été conservée.

4.3.2.3 Les autres variables

- Comme il a été dit précédemment, l'isolement de la gonade est impossible à réaliser lors de la dissection. Il en découle une imprécision dans toutes les mesures car elles sont

effectuées sur l'ensemble gonade+glande digestive (poids de matière humides et sèche, poids de cendre, dosages de P, L, G et calorimétrie). Cette imprécision est d'autant plus importante que l'huître est jeune, car la gonade occupe peu de place.

- Les poids des organes humides séparés ont pu être sous-estimés compte tenu des nombreuses manipulations effectuées pour la dissection et la détermination du sexe. Pour cette raison, l'étude de l'évolution du pourcentage en eau dans la gonade est biaisée. Cette variable aurait pu être un indicateur de régression et donc de périodes de ponte.

- Les hypothèses émises après analyse des résultats obtenus sur les protéines, lipides et glucides sont à relativiser compte tenu du petit nombre de prélèvements analysés jusqu'alors. Il ne s'agit que de tendances.

- Une remarque peut être émise quant à la détermination du sexe pour le stock 1. Le nombre d'individus de sexe indéterminé est relativement important à chaque suivi. Ceci dit, il est hautement probable que si la détermination avait été possible, les individus auraient été du sexe mâle.

4.3.3 CYCLE DE REPRODUCTION DE *Pinctada margaritifera*

Sur la période allant du 25 mars au 29 juillet 1997, l'étude de nombreuses variables a permis de mettre en évidence l'existence d'une ponte à la fin du mois de mai.

Cette période de ponte ne coïncide pas avec les dates des deux pics de ponte annuels déterminés chez *Pinctada margaritifera* et cités par les auteurs précédents (TRANter, 1958 ; THIELLEY, 1993 ; BUESTEL *et al.*, 1995), bien qu'il s'agisse d'une ponte importante et synchrone.

Cependant, cette ponte peut être reliée à certaines périodes de ponte déterminées chez d'autres espèces. Ainsi, une ponte a été observée à cette période chez *Crassostrea madrasensis* (STEPHEN, 1980), *Pinctada fucata* (TRANter, 1958) et *Pinctada albina* (TRANter, 1958). Pour *Crassostrea madrasensis* et *Pinctada albina*, ces observations ont été réalisées en zone équatoriale humide, comme lors de cette étude. Les expériences menées sur *Pinctada fucata* ont été réalisées en zone aride. Nous savons que le cycle de reproduction est fortement influencé par le climat et la latitude. Une ponte fin mai correspond au début de l'hiver austral impliquant des changements climatiques (BUESTEL et POUVREAU, *in prep.*). Plus généralement, une ponte en mai est souvent mise en évidence chez les autres espèces de bivalves, quelque soit le climat et la latitude. Ainsi, certains Pectinidés présentent une ponte à cette période, c'est le cas pour *Pecten maximus* (ROMAN *et al.*, 1995 ; LUBET *et al.*, 1995), *Argopecten circularis* (FELIX-PICO *et al.*, 1995) et *Placopecten magellanicus* (DIBACCO *et al.*, 1995).

La présence quasi-permanente, pour chacun des stocks, de stades de régression partielle (tout le contenu gonadique n'a pas été expulsé) conduit à émettre l'hypothèse de pontes partielles et asynchrones dont tous les auteurs affirment l'existence chez *Pinctada margaritifera* (TRANter, 1958 ; THIELLEY, 1993 ; BUESTEL *et al.*, 1995). Mais il est également possible que les animaux aient arrêté leur maturation et qu'il y ait eu résorption des produits génitaux. Cette hypothèse se justifie pour le stock 3 qui montre, de surcroît, une croissance en chair faible sur la période étudiée.

D'après les différents auteurs et suite à nos propres observations, *Pinctada margaritifera* était prête à maturer et ponte tout au long de la période étudiée. Cette étude infirme les hypothèses émises par RANSON (1961) selon lesquelles les glandes génitales de

Pinctada margaritifera ne seraient pas fonctionnelles pendant l'hiver austral et la reproduction aurait lieu uniquement d'octobre à février.

Concernant l'âge à la première maturité sexuelle, cette étude montre que les nacres de 1 an, exactement, présentent déjà des produits génitaux visibles en macroscopie. *Pinctada margaritifera* acquiert donc sa maturité au moins à 1 an et peut-être même avant. TRANTER (1958) identifie l'âge à la première maturité sexuelle lors de la deuxième année d'existence, au cours de la première ou de la deuxième saison de reproduction. Nos résultats sont en accord avec TRANTER, mais il est possible que cet âge soit inférieur à 1 an. En effet, THIELLEY (1993) estime cet âge à 6 mois.

4.3.4 LA QUANTIFICATION *IN SITU* DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

L'estimation *in situ* de l'effort de reproduction n'a été possible que sur des animaux de 2 et 3 ans. Il n'a pas été décelé de ponte importante et quantifiable chez les animaux du stock 1. Les estimations réalisées ne représentent pas un effort de ponte maximal pour l'espèce puisqu'elles ne portent pas sur un des pics de ponte, mais elle permet de donner une première idée de l'énergie consacrée par *Pinctada margaritifera* pour sa reproduction.

Les résultats montrent que les huîtres de 3 ans (ER1 de 0,4) pondent en plus grande quantité que des huîtres de 2 ans (ER1 de 0.21).

Espèce	Pr	Auteur
<i>Mytilus edulis</i> - 1 an	35 739 J/an	LUCAS et al., 1978
<i>Chlamys opercularis</i>		LUCAS et al., 1978
1 an	836 J/an	
2 ans	1 880 J/an	
3 ans	2 300 J/an	
<i>Ostrea edulis</i> - âge variable	16 385 J/an	LUCAS et al., 1978
<i>Pinctada margaritifera</i>		CETTE ETUDE
1 an	0 J du 25 mars au 29 juillet	
2 ans	7130 J sur la même période	
3 ans	8 970 J sur la même période	

Tableau 15 : Production de gamètes de quelques espèces.

La comparaison des productions de gamètes obtenues avec d'autres espèces montre que *Pinctada margaritifera* investit beaucoup d'énergie dans la reproduction. La production de gamètes de la nacre sur la courte période étudiée est bien plus élevée que la production annuelle de gamètes observée chez *Chlamys opercularis* quelque soit l'âge. Par contre, l'huître perlière semble bien moins investir d'énergie dans sa reproduction que *Mytilus edulis*, mais nous ne disposons pas d'une production de gamètes annuelle et la ponte mesurée lors de cette étude n'est pas une ponte majeure du cycle de l'espèce.

En terme d'effort de reproduction, celui-ci est faible pour les huîtres de 2 ans. La moule *Perna perna* présente un effort de ponte de 0,5-0,6 au même âge (BERRY, 1978). L'effort de ponte obtenu chez les huîtres de 3 ans est semblable à celui obtenu sur *Mytilus edulis* au même âge (THOMPSON, 1984). Le calcul d'un effort de reproduction incluant la

production de coquille abaisse encore l'investissement énergétique de l'huître perlière dans sa reproduction.

4.3.5 CONCLUSION

Plusieurs observations sont possibles :

- La ponte observée fin mai lors de cette étude ne constitue pas une ponte majeure du cycle de reproduction de *Pinctada margaritifera*, bien qu'elle soit importante et synchrone.
- L'espèce présente sur toute la période des régressions dues à des petites pontes partielles et asynchrones ou à des résorptions cellulaires.
- L'effort de reproduction calculé pour les huîtres de 2 et 3 ans n'est pas un effort très élevé mais il n'a pas été calculé sur une ponte majeure.

5. ETUDE EXPERIMENTALE DE LA REPRODUCTION

5.1 MATERIEL ET METHODES

L'objectif de cette expérience est de calculer un effort de reproduction expérimental dans des conditions de milieu proches de celles de Takapoto. A notre connaissance, aucune expérience de ce type n'a encore été réalisée sur l'huître perlière *Pinctada margaritifera*.

5.1.1 PRESENTATION ET ORGANISATION DE LA SALLE D'EXPERIMENTATION (Photo 14)

L'expérience s'est déroulée dans la salle expérimentale du laboratoire huîtres perlières du COP. Celle-ci est constituée de 12 bacs cylindriques de 330 litres réalisés en résine polyester.

Les bacs sont alimentés en eau de mer filtrée. L'eau de mer est prélevée dans le lagon de Vairao grâce à un système de pompage interne aux installations de L'IFREMER-COP. Elle est ensuite filtrée successivement sur un filtre à sable puis sur trois filtres synthétiques (5, 5 et 1 μ m). Cette eau est stockée temporairement dans deux réservoirs intermédiaires (un pour chaque série de 6 bacs) avant d'être redistribuée dans les bacs, par gravité.

Les suspensions d'algues, servant à l'alimentation des nacres, sont produites dans la salle d'algues du COP. Elles sont ensuite acheminées à la concentration voulue dans une cuve intermédiaire de stockage d'une contenance de 1 200 litres. Cette cuve, munie d'une pompe, assure une redistribution égale et constante des algues vers les différents bacs de la salle d'expérimentation.

La température des bacs est modulable grâce à deux systèmes : un système de préchauffage qui permet un préchauffage global de l'eau et un système de résistance chauffante présente dans la paroi interne de chaque bac et permettant de réguler la température bac par bac.

L'aération est permise par la présence dans chaque bac d'un diffuseur qui fournit à la fois l'oxygène nécessaire et un courant d'eau dans le bac.



Photo 14 : Salle expérimentale du COP.

5.1.2 PLAN D'EXPERIENCE

Comme pour l'étude *in situ*, 120 nacres, destinées à l'étude expérimentale, ont été acheminées, par avion, de l'atoll de Takapoto. Dès réception, le 3 juin 1997 en fin d'après-midi, elles ont été transportées à l'IFREMER-COP, mises en chapelets, marquées et placées en stabulation dans les bacs. Ces animaux ont été prélevés de façon aléatoire dans le stock mis en place pour l'étude *in situ*. Les animaux destinés à l'expérience sont donc similaires à ceux destinés au suivi *in situ*.

Sur les 12 bacs, 6 ont été maintenus à température ambiante c'est-à-dire environ 26°C (température du lagon de Takapoto à cette période) tandis que les 6 autres ont été progressivement amenés à 30-31°C, en une semaine, et maintenus à cette température grâce aux différents systèmes de chauffage. Cette température correspond à celle de l'eau du lagon en été austral.

Sur chaque série de 6 bacs, 5 comportaient des huîtres tandis que le dernier était utilisé comme bac témoin, sans animaux.

Chacun de ces 5 bacs reçoit 4 chapelets de 3 nacres (soit 12 nacres par bac). L'expérience a été réalisée sur trois classes d'âge : 1, 2 et 3 ans ; chaque chapelet étant composé d'une huître d'1 an, une huître de 2 ans et une huître de 3 ans. De cette façon, chaque bac est équivalent en terme de nombre d'huître comme en terme de classe d'âge. Par convention, la nomenclature suivante a été adoptée pour identifier les animaux :

- n° du bac
- classe d'âge notée par les lettres P (petites de 1 an), M (moyennes de 2 ans), G (grosses de 3 ans)
- n° du chapelet

5.1.3 PARAMETRES FIXES ET SUIVIS AU COURS DE L'EXPERIENCE

5.1.3.1 Renouvellement de l'eau des bacs

Le débit d'eau de mer filtrée a été fixé à 108 l/h, valeur conciliant à la fois les exigences de chauffage et de renouvellement du milieu.

Ces débits sont vérifiés chaque matin pour chacun des bacs. Le filtre à sable est rincé quotidiennement et les filtres synthétiques sont changés régulièrement.

5.1.3.2 Alimentation

Le régime alimentaire choisi est un mélange d'*Isochrysis aff galbana* et de *Chaetoceros gracilis*, ajouté aux particules ($\leq 1 \mu\text{m}$) du milieu lagonaire non retenues par les différents filtres synthétiques.

La quantité d'algues ajoutée à l'eau de mer filtrée a été calculée de façon à obtenir une charge particulaire totale dans les bacs proche de celle du milieu lagonaire d'origine. Dans le lagon de Takapoto, la matière particulaire totale $>1 \mu\text{m}$ (retenue sur filtre GFC) est en moyenne de 0,88 mg/l (BUESTEL et POUVREAU, *in prep.*). Ainsi, dans les bacs, une charge particulaire proche de 1 mg/l (dont 70% de matière organique) a été maintenue au cours de l'expérience. Compte tenu de la filtration immédiate des huîtres perlières, le maintien de ce niveau en matière particulaire a été permis par un apport en algues d'environ 60 millions de cellules/min/bac nécessitant une production totale de la salle d'algues d'environ 1 000 milliards de cellules pour l'alimentation quotidienne des 12 bacs.

5.1.3.3 Température

La température des bacs est vérifiée chaque jour à l'aide d'un thermomètre à mercure.

5.1.3.4 Nettoyage des bacs

Chaque matin, les fécès et pseudofécès éventuels de nacres sont siphonnés. Au cours de l'expérience, chacun des bacs a subi un nettoyage à l'eau douce+javel. Ceci a permis d'éliminer temporairement les éponges et ascidies qui s'étaient développées sur les coquilles des nacres et sur les parois des bacs.

5.1.3.5 Suivi du milieu

Chaque jour, deux litres d'eau de chacun des bacs sont filtrés sur des filtres en fibre de verre WHATMAN GF/C (diamètre 4,7 cm), au préalable précramés (2 heures au four à 520°C) et prépesés. Après filtration et rinçage au formiate d'ammonium (68 g/l) pour éliminer le sel, les filtres sont placés à l'étuve à 70°C et pesés pour déterminer le seston total, noté TPM (Total Particulate Matter). Ils sont ensuite cramés 5 heures dans un four à 520°C puis repesés afin d'obtenir la matière inorganique particulaire, notée PIM (Particulate Inorganic Matter). Par déduction est calculée la matière organique particulaire, notée POM (Particulate Organic Matter).

Ce suivi du milieu permet de contrôler l'apport alimentaire et les éventuels accidents qui pourraient survenir au cours de l'expérience dans la distribution d'algues. Il permet également de quantifier la quantité d'algues filtrées et consommées par les nacres par rapport au bac témoin.

Les filtrations d'eau doivent avoir lieu une fois que les bacs ont atteint leur équilibre. En effet, chaque matin, l'arrêt d'environ 1h30 de la distribution en algues, entraîne une rupture de l'équilibre de la concentration des bacs. Le temps nécessaire aux bacs pour atteindre leur nouvel équilibre est variable en fonction de l'impact de filtration des bivalves. Ce temps a été obtenu par modélisation du système (sous STELLA, version Research 4.0). Les résultats obtenus sont les suivants :

- pour les bacs témoins, le temps d'équilibre est de 8 heures,
- pour les bacs avec des huîtres, il est d'environ 1 heure (en considérant une filtration synchrone de l'ensemble des 12 animaux).

Ainsi, le temps optimum de mesure des paramètres du milieu au sein des bacs doit être au minimum de 8 heures, après reprise de la distribution en algues.

5.1.4 MESURE DE L'EFFORT DE PONTE

5.1.4.1 *Conditionnement des huîtres* (Photo 15)

La mesure d'un effort de ponte expérimental a été tentée sur chacune des nacres présentes dans les bacs. Celle-ci n'est possible que si les nacres sont parfaitement isolées les unes des autres afin de récolter séparément les produits de la ponte.

Pour cela, les nacres sont transférées dans un bac récolteur pouvant contenir les 12 nacres d'un bac. Les nacres d'un même bac ont donc pu être traitées simultanément. Les compartiments recevant chacun une nacre sont parfaitement identiques avec des cloisons parfaitement étanches. Ils sont munis individuellement d'un bulleur à oxygène.

Le bac récolteur est lui-même placé dans un autre bac (bac principal) contenant de l'eau de mer. Le renouvellement de l'eau est réalisé en augmentant le niveau d'eau du bac principal jusqu'à recouvrement du bac récolteur ceci créant un courant d'eau à la surface du bac récolteur. L'alimentation en algues est réalisée de la même façon.

Les nacres sorties de leur bac d'élevage sont brossées pour éliminer éponges et ascidies. Le transfert dans le bac récolteur a lieu le plus rapidement possible afin d'éviter les stress. Dans les compartiments, les nacres sont suspendues dans la même position que lorsqu'elles sont en chapelets, ceci également dans le but d'éviter tout stress dû à un changement de condition.



Photo 15 : Bac récolteur.

5.1.4.2 Déclenchement artificiel de la ponte

Le transfert des nacres dans le bac récolteur a lieu le soir.

Le déclenchement artificiel de la ponte est obtenu par deux opérations : un stress thermique suivi de l'addition d'une suspension de sperme congelé.

Le stress thermique est préparé le soir par une diminution de la température jusqu'à 22°C. Le choc véritable est induit par une remontée rapide (en 30 minutes) de la température jusqu'à 30-31°C le matin suivant.

Si ce choc ne suffit pas, un échantillon de sperme congelé récupéré lors de pontes précédentes est ajouté dans chacun des compartiments.

Le temps avant obtention des pontes est variable suivant les bacs et suivant les nacres, mais généralement inférieur à 1 heure. Il peut arriver que la ponte ne soit pas déclenchée ou que le simple transfert des nacres dans le bac récolteur induise une ponte. Dès qu'une ponte est observée, le niveau d'eau dans le bac principal est diminué de façon à éliminer le courant d'eau de surface et d'isoler parfaitement le contenu des compartiments.

L'expérience s'est achevée après que toutes les nacres aient subi cette manipulation, le 11 juillet 1997.

5.1.4.3 Récolte des produits issus de la ponte

Une fois la ponte terminée, les nacres sont placées dans un autre bac à 12 compartiments. Le contenu des cases est bien homogénéisé et une quantité variable de produits génitaux (selon l'intensité de la ponte) est prélevée à la seringue. Pour chaque prélèvement, des duplicats sont réalisés.

Les duplicats sont ensuite filtrés sur filtres WHATMAN GF/C selon le même protocole que pour la mesure du seston. En parallèle, un échantillon témoin (provenant d'une case où il n'y a pas eu de ponte ou du bac principal) est prélevé et filtré.

Il peut arriver qu'une nacre entame une nouvelle ponte après son transfert dans le nouveau bac. Dans ce cas, des duplicats sont de nouveau prélevés et filtrés.

Les filtres sont placés à l'étuve puis pesés. Les particules retenues sur les filtres témoins permettent de déduire la quantité de produits issus de la ponte retenue sur les filtres. Il est alors possible de connaître la quantité en milligramme de produits secs émis lors de la ponte. Cette quantité peut être convertie en équivalent énergétique via l'estimation de BAYNE (1975): 1 mg d'oeufs secs = 23 Joules.

5.1.4.4 Les comptages cellulaires

Parallèlement aux filtrations, des échantillons sont prélevés pour subir un comptage cellulaire. Selon l'intensité de la ponte et donc l'abondance de produits génitaux, le comptage a lieu sur lames AGASSE-LAFONT (pour estimer des concentrations faibles), MALASSEZ (fortes concentrations) ou THOMA (très fortes concentrations). Les comptages cellulaires constituent un second moyen d'estimer l'effort de ponte.

5.1.5 TRAITEMENT STATISTIQUE DES DONNEES

Toutes les données ont été traitées statistiquement à l'aide des logiciels EXCEL Version 7.0 et SYSTAT Version 5.

Les efforts de reproduction obtenus par filtration ont été traités par une analyse factorielle de variance à deux critères, selon un modèle fixe (les deux facteurs sont fixés et non aléatoires) ainsi qu'un test a posteriori de comparaison multiple. Les deux critères sont l'âge et la température. Nous considérons que les conditions de l'ANOVA (normalité des distributions au sein de chaque groupe et homogénéité des variances des groupes) sont réunies.

Enfin, une régression linéaire a été réalisée pour exprimer la relation entre la quantité de gamètes obtenue par filtration et la quantité de gamètes obtenue par comptage cellulaire.

5.2 RESULTATS

5.2.1 SUIVI DU MILIEU

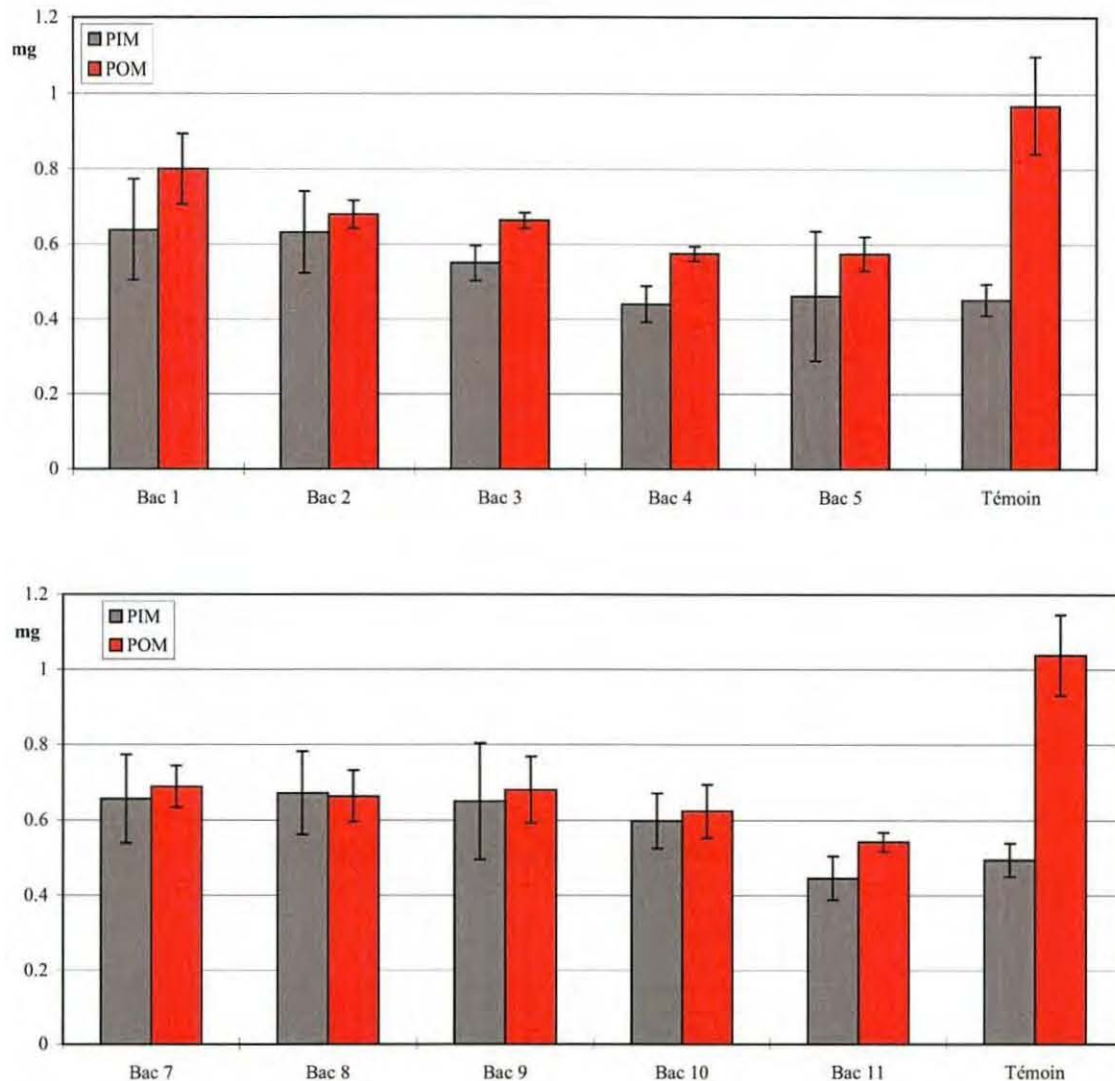


Figure 23 : Moyennes et variances des valeurs de matière minérale (PIM) et matière organique (POM) pour chacun des bacs au cours de l'expérience.

Globalement, les taux de matière minérale et organique varient peu d'un bac à l'autre. Les conditions de milieu ont donc été relativement stables tout au long de l'expérience. Les valeurs moyennes sont d'environ 0,6 mg/l de matière organique, et 0,6 mg/l de matière minérale dans les bacs avec nacrés. Les bacs témoin ont une valeur en matière organique beaucoup plus élevée, proche de 1 mg/l. La différence entre les bacs témoin et les bacs avec nacrés témoigne de la consommation en organique des huîtres.

5.2.2 BILAN DES PONTES OBTENUES

5.2.2.1 *Les pontes spontanées*

Dans certains bacs d'élevage, des pontes spontanées ont été observées au début de l'expérience. Elles n'ont pas pu être quantifiées.

<i>Bac</i>	<i>Traitement chaud</i>	<i>Traitement froid</i>
1	0	1
2	0	1
3	2	1
4	0	0
5	1	3
Total	3	6

Tableau 16 : Répartition des pontes spontanées par bac et traitement.

Des pontes spontanées ont été observées plus fréquemment dans les bacs à 26°C que dans les bacs à 31°C, mais rien ne permet de statuer quant à leur importance relative.

5.2.3 NOMBRE D'HUITRES AYANT PONDU APRES DECLENCHEMENT ARTIFICIEL

<i>Age</i>	<i>Traitement chaud</i>	<i>Traitement froid</i>
1 an	6	7
2 ans	15	15
3 ans	9	11
Total	30	33

Tableau 17 : Répartition des pontes déclenchées par âge et traitement.

Quelque soit le traitement, le nombre de pontes le plus faible a été observé chez les huîtres d'un an. Plus de pontes ont été obtenues chez les nacres de 2 ans par rapport à celles de 3 ans, quelque soit le traitement. Globalement, le nombre de pontes obtenues et leur répartition par âge sont similaires en traitement chaud et en traitement froid. 63 pontes ont été déclenchées pour 120 nacres traitées.

5.2.4 EFFORT DE REPRODUCTION OBTENU PAR FILTRATION (en mg)

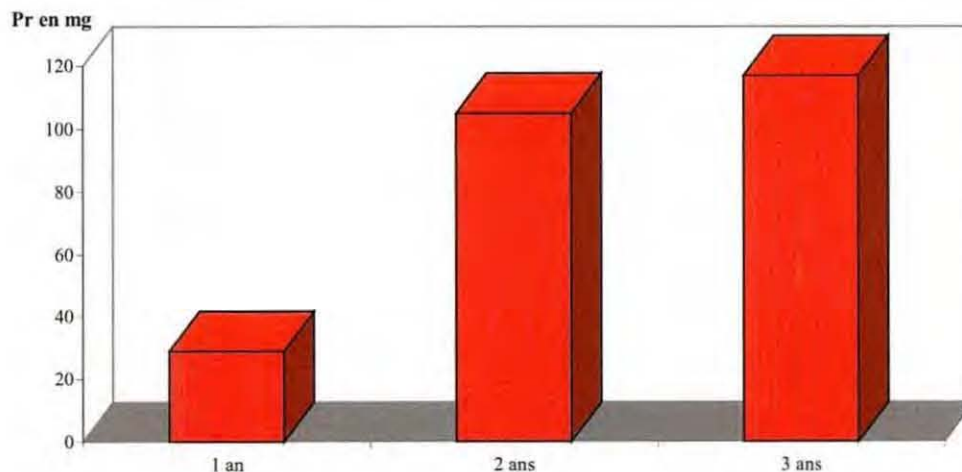
5.2.4.1 Analyse de variance à deux facteurs

<i>Nature de la variation</i>	<i>SCE</i>	<i>DDL</i>	<i>Variance estimée</i>	<i>F calculé</i>	<i>Niveau de signification</i>	
<i>due à la température</i>	3355.701	1	3355.701	0.327	0.570	NS
<i>due à l'âge</i>	68023.570	2	34011.785	3.310	0.044	*
<i>due à l'interaction</i>	1580.335	2	790.167	0.077	0.926	NS
<i>due aux erreurs</i>	554887.103	54	10275.687			
<i>Totale</i>	627846.709	59				

Tableau 18 : Analyse factorielle de variance à deux critères.

Au risque $\alpha=0,05$, l'effort de reproduction varie de façon significative en fonction de l'âge ($p=0.044$). Elle ne varie pas de façon significative en fonction de la température, ni de l'interaction entre les deux facteurs ($p<0.05$).

Il est donc possible de calculer un Pr moyen par âge sans différencier les données obtenues selon les deux températures.

**Figure 24 :** Effort de reproduction expérimental en fonction de l'âge.

L'effort de reproduction des nacres d'un an (environ 29 mg (0 - 90)) semble nettement inférieur à celui des nacres de 2 et 3 ans. Par contre, les nacres de 2 ans semblent présenter un effort de reproduction proche des nacres de 3 ans (respectivement 105 mg \pm 37 et 117 mg \pm 49).

5.2.4.2 Test LSD de comparaison multiple

Le test donne la matrice suivante :

Age	1 an	2 ans	3 ans
1 an	1,00		
2 ans	0,029 *	1,00	
3 ans	0,02 *	0,699 NS	1,00

Tableau 19 : Résultats du test de comparaison multiple.

Ce test confirme les hypothèses émises auparavant. L'effort de reproduction obtenu chez les nacres d'un an est significativement différent de celui obtenu chez les nacres de 2 et 3 ans ($p < 0.05$). Il n'y a aucune différence significative entre l'effort de reproduction des huîtres de 2 et 3 ans ($p = 0.699$).

5.2.5 RELATION ENTRE LE Pr OBTENU PAR FILTRATION ET LE Pr OBTENU PAR COMPTAGE CELLULAIRE

Un modèle de régression linéaire simple est proposé pour exprimer la relation entre l'effort obtenu par filtration (Prf en mg) et l'effort obtenu par comptage cellulaire (Prc en millions de spermatozoïdes car l'expérience ne comptait pas d'individus femelles).

Ce modèle est de la forme : **$Prc = a Prf + b$**

L'ajustement du modèle est donné par la régression linéaire suivante :

Paramètres	Estimation	Erreur standard	T	Probabilité
a	249,1	11,757	21,187	0,000
b	- 2263,697	1773,052	-1,277	0,211

Tableau 20 : Modèle de régression linéaire simple $Prc = aPrf + b$.

La validité du modèle est la suivante :

	SCE	DDL	CM	Fcalc	Probabilité
Régression	SCM = 0,25E+11	1	0,25E+11	448,897	0,000
Résidus	SCER = 0,18E+10	32	0,56E+8		

Tableau 21 : Analyse de variance du modèle $Prc = aPrf + b$.

Le niveau de probabilité ($< 0,05$) montre que le modèle choisi est adéquat pour représenter la relation.

Les estimateurs de la régression sont les suivants :

$$\hat{a} = 249,1 \quad \text{dont la valeur est significative } (0,000 < 0,05),$$

$$\hat{b} = -2263,7 \quad \text{mais dont la valeur n'est pas significative } (0,211 > 0,05),$$

$$R^2 = 0,933$$

Puisque la valeur de b n'est pas significative, un modèle plus simple peut être établi, de la forme : **Prc = a Prf**

L'ajustement de ce modèle donne les résultats suivants :

<i>Paramètres</i>	<i>Estimation</i>	<i>Erreur standard</i>	<i>T</i>	<i>Probabilité</i>
a	238,827	8,654	27,598	0,000

Tableau 22 : Modèle de régression linéaire simple Prc = aPrf.

La validité de ce modèle est la suivante :

	<i>SCE</i>	<i>DDL</i>	<i>CM</i>	<i>Fcalc</i>	<i>Probabilité</i>
Régression	SCEM = 0,44E+11	1	0,44E+11	761,646	0,000
Résidus	SCER = 0,19E+10	33	0,58E+8		

Tableau 23 : Analyse de variance du modèle Prc = aPrf.

Le niveau de probabilité ($<0,05$) montre l'adéquation du modèle. La régression de Prc en Prf est significative.

L'estimateur \hat{a} prend la valeur significative ($<0,05$) de $238,83 \pm 16,96$.

Le coefficient de corrélation R^2 est égal à 0,958, ce qui est plus élevé que la valeur trouvée avec le modèle précédent.

La relation entre l'effort obtenu par filtration et l'effort obtenu par comptage cellulaire peut être exprimée par le modèle de régression linéaire simple suivant :

$$\text{Prc} = \hat{a} \text{ Prf} \quad \text{avec } \hat{a} = 238,83 \pm 16,96 \\ \text{et } R^2 = 0,958.$$

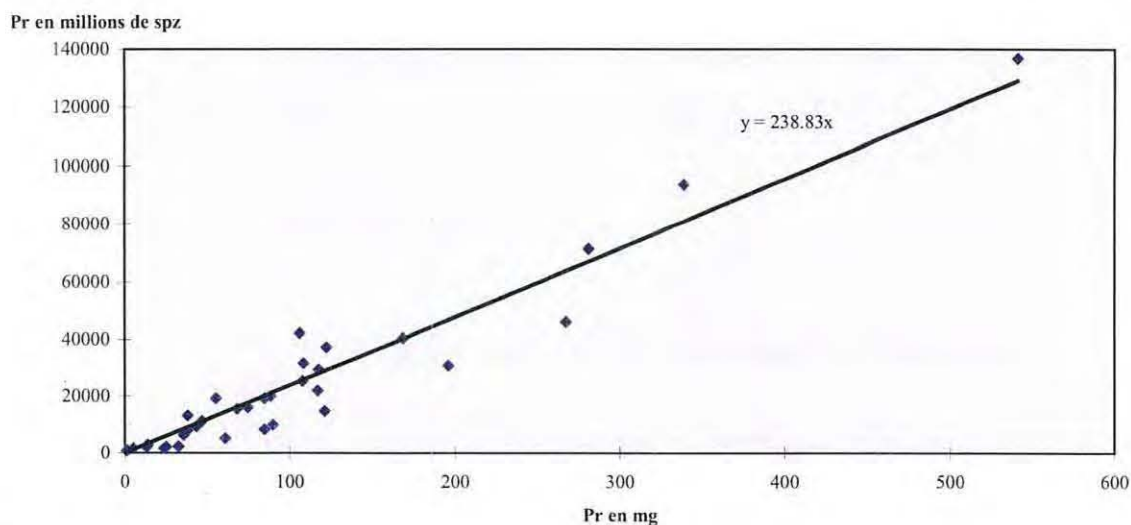


Figure 25 : Relation liant l'effort de ponte par filtration et l'effort par comptage.

5.2.6 ESTIMATION ENERGETIQUE DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

Comme il a été effectué lors de l'étude *in situ*, il est possible de convertir les efforts de ponte obtenus en mg en équivalent énergétique.

<i>Age</i>	<i>Pr en mg</i>	<i>Pr en millions de cellules</i>	<i>Pr en Joules</i>
<i>1 an</i>	29	6 925	667
<i>2 ans</i>	105	25 077	2 415
<i>3 ans</i>	117	27 942	2 691

Tableau 24 : Conversion de la production de gamètes.

5.2.7 CONCLUSION

Aucune influence de la température sur les aspects quantitatifs de la maturation n'a pu être mise en évidence. Mais elle influence le déclenchement de la ponte, lors de brusques variations.

L'étude expérimentale de l'effort de reproduction a permis d'aboutir à une première estimation, en laboratoire, sur des huîtres de 1, 2 et 3 ans :

Pr 1an \approx 29 mg,

Pr 2ans \approx 105 mg,

Pr 3 ans \approx 117 mg.

Si les huîtres d'un an présentent un effort de reproduction nettement moins important que les huîtres de 2 et 3 ans, il n'y a pas de différence significative entre les nacres de 2 et 3 ans.

La relation liant le Pr déterminé par filtration et le Pr déterminé par comptage peut être exprimée par un modèle de régression linéaire simple dont l'équation est **Prf = 238,83 Prc**.

5.3 DISCUSSION

5.3.1 CRITIQUE DE LA METHODE

Malgré le maintien et le contrôle de nombreux paramètres au cours de l'expérience, l'estimation d'un effort de reproduction obtenu en laboratoire n'est pas applicable au milieu naturel. En effet, si les conditions d'élevage (notamment l'alimentation) sont déterminées de façon à se rapprocher au maximum de celles trouvées dans le milieu naturel, d'un point de vue quantitatif, le régime risque d'être très différent d'un point de vue qualitatif. Il convient, cependant, de noter que les teneurs en matière organique (POM) et en matière minérale (PIM) ont été très proches de celles que l'huître a à sa disposition dans le milieu naturel.

De plus, les pontes ont été déclenchées artificiellement et aucun suivi de la maturation, permettant de connaître le moment optimal pour déclencher une ponte maximale, n'a pu être réalisé (ce suivi étant impossible à effectuer sans sacrifice d'animaux, il a donc été exclu). Les résultats qui ont été obtenus ont donc forcément été sous-estimés par rapport à ceux qui auraient été obtenus dans le milieu naturel.

5.3.2 INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA MATURATION ET LE DECLenchement DE LA PONTE

Dans le cadre de cette expérience, aucune influence de la température sur le déclenchement et l'intensité de la maturation n'a pu être mise en évidence. Il est donc impossible de confirmer l'hypothèse de THIELLEY (1993) selon laquelle, la température apparaît comme le principal facteur jouant un rôle sur l'évolution du développement des gonades de *Pinctada margaritifera*. Cependant, les résultats obtenus lors de cette expérience ne permettent pas non plus d'infirmer cette hypothèse.

Par contre, la température joue un rôle certain dans le déclenchement des pontes. La méthode du stress thermique, utilisée pour déclencher artificiellement les pontes, a très bien fonctionné. Cependant, l'hypothèse de THIELLEY (1993), selon laquelle les périodes de variations brutales de la température dans le milieu naturel (réchauffement ou refroidissement) entraîneraient des pontes massives avec une déplétion importante des gonades, est à modérer car le milieu ne subit pas réellement de brutales variations de température.

5.3.3 ESTIMATION EXPERIMENTALE DE L'EFFORT DE REPRODUCTION

Il est impossible ici de calculer un effort de reproduction (ER) sur la période puisque la production somatique (Pg) sur cette même période n'a pu être estimée. A la fin de l'expérience, le 11 juillet 1997, les nacres n'ont pas été sacrifiées. L'expérience a continué afin d'obtenir une deuxième estimation de Pr, par déclenchement d'une deuxième ponte, mais dont les résultats n'ont pas été intégrés à ce travail faute de temps.

Nous ne disposons d'aucun résultat de production gamétique obtenue expérimentalement chez d'autres espèces. Les résultats obtenus au cours de cette expérience ne peuvent qu'être comparés à des résultats obtenus *in situ* et sur des pontes complètes. De

même, nous ne disposons d'aucune référence de comptage de cellules mâles, les expériences de comptage cellulaire étant souvent réalisées sur des oeufs.

L'amélioration des conditions d'élevage permettrait l'estimation d'un effort de reproduction expérimental plus proche de la réalité. En effet, ceci permettrait d'améliorer la maturation au cours de la phase d'élevage. Deux mesures peuvent être envisagées au niveau de l'alimentation : l'augmentation de la variété des algues constituant le régime alimentaire et par suite l'isolement de nouvelles souches provenant de milieux lagunaires.

5.3.4 CONCLUSION

Trois conclusions sont à retenir de cette expérience :

- Aucune influence de la température n'a été montrée sur le déclenchement et l'intensité de la maturation de l'huître perlière. Cependant, la température a une action certaine sur le déclenchement de la ponte, lors de fortes variations..
- Une première estimation de la production de gamètes (Pr) a été obtenue pour trois classes d'âge. Les huîtres d'un an consacrent moins d'énergie à leur fonction de reproduction que des nacres de 2 et 3 ans. La production de gamètes augmente avec l'âge.
- La relation entre la production de gamètes en milligrammes et la production de gamètes issue d'un comptage cellulaire (uniquement pour des huîtres mâles) peut être exprimée par un modèle de régression linéaire simple.

6. CONCLUSION GENERALE

COMPARAISON DE L'ETUDE *IN SITU* ET DE L'ETUDE EXPERIMENTALE

Dans les deux cas, l'objectif d'estimation quantitative de l'effort de reproduction de l'huître perlière *Pinctada margaritifera* a été atteint. Il a donné les résultats suivants :

Age	<u>Suivi in situ</u>			<u>Etude expérimentale</u>		
	<i>Pr en mg</i>	<i>Pr en millions de cellules</i>	<i>Pr en joules</i>	<i>Pr en mg</i>	<i>Pr en millions de cellules</i>	<i>Pr en joules</i>
1 an	0	0	0	29	6 925	667
2 ans	310	74 034	7 130	105	25 077	2 415
3 ans	390	93 140	8 970	117	27 942	2 691

Tableau 25 : Comparaison des Pr obtenus *in situ* et en laboratoire.

L'étude expérimentale montre effectivement des efforts de reproduction sous-estimés par rapport à ceux obtenus lors du suivi *in situ*, mis à part pour les huîtres d'un an. L'effort de reproduction *in situ* a pu être converti en millions de cellules grâce à la relation obtenue lors de l'étude expérimentale entre l'effort de ponte en milligrammes et l'effort en millions de cellules.

Dans les deux cas, les résultats abondent dans le même sens :

- Les huîtres âgées d'un an s'investissent beaucoup moins dans leur fonction de reproduction que les huîtres de 2 et 3 ans. Cependant, elles présentent des produits génitaux dès cet âge. Aucune ponte importante n'a été mise en évidence lors du suivi *in situ* chez les nacres d'un an, mais l'étude des stades de maturité sexuelle a montré la présence d'animaux matures et même en régression. L'étude expérimentale a même permis d'obtenir des pontes chez les huîtres d'un an.

- Les huîtres de 2 ans s'investissent moins dans leur fonction de reproduction que les huîtres de 3 ans.

Dans l'étude *in situ* comme dans l'étude expérimentale, ce ne sont pas des efforts de ponte maximaux qui ont été obtenus. En effet, le cycle de reproduction de l'espèce montre des pontes partielles et asynchrones tout au long de l'année et deux pics de pontes dont les dates sont variables suivant les auteurs. L'effort de ponte *in situ* a été calculé sur une ponte

synchrone et importante (fin mai) mais qui n'est pas l'un des pics observés antérieurement. Cependant, la méthode d'estimation utilisée est satisfaisante et la continuité du suivi *in situ* permettra sûrement le calcul d'un effort de reproduction maximal de l'huître perlière.

Enfin, l'étude expérimentale n'a pas mis en évidence l'influence de la température sur la maturation de l'huître perlière.

IMPLICATION ECOLOGIQUE

L'huître perlière semble capable de pondre toute l'année, avec des maxima pendant les saisons charnières (mars-mai pour cette étude et septembre-novembre d'après les références bibliographiques), et de façon importante (comptages cellulaires élevés). Dès l'âge d'un an, les gonades sont fonctionnelles. A priori, ces caractéristiques procurent à ce bivalve un fort pouvoir de reproduction. Cependant, lors de sa reproduction, l'huître perlière se heurte à de nombreux facteurs limitants. Tout d'abord le stock faible de femelles, qui de plus sont souvent âgées, entraîne un effort de ponte plus faible en nombre. Ceci représente un premier facteur limitant. De plus, une fois la fécondation réalisée, les larves sont menacées par une forte prédation, puis par des compétiteurs importants lors de la fixation.

IMPLICATION POUR LA PROFESSION

L'expérience en laboratoire a montré qu'il était possible de maintenir des géniteurs en élevage. Cependant, la maturation de ces derniers n'est pas encore maîtrisée bien que des possibilités d'amélioration sont envisageables (augmentation de variétés d'algues et isolement de nouvelles souches du milieu lagunaire). Une solution pour la profession est d'avoir recours à un stock de géniteurs provenant du milieu naturel. En effet, compte tenu du fort pouvoir de reproduction de l'huître perlière et de la maîtrise du déclenchement artificiel de la ponte, un stock minimal de géniteurs peut suffire.

LEXIQUE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

Ab : Absorption
As : Assimilation
B : Biomasse
C : Consommation
DGVF : Fraction volumique des gamètes en développement
ER : Effort de reproduction
EVAAM : Etablissement pour la Valorisation des Activités Aquacoles et maritimes
F : Fécès
FCP : Franc pacifique
G : Glucides
GVF : Gamete volume fraction ou fraction volumique des gamètes
IC : Indice de condition
IG : Indice gonadique
IGS : Indice gonado-somatique
L : Lipides
MES : Matière en suspension
MGVF : Fraction volumique des gamètes matures
P : Protéines
Pc : Production de coquille
PF : Pseudofécès
Pg : Production somatique
PGRN : Programme Général de Recherche sur la Nacre
PIM : Particulate inorganic matter ou matière particulaire inorganique
POM : Particulate organic matter ou matière particulaire organique
PR : Production de gamètes
R : Respiration
Rg : Respiration gonadique
RGVF : Fraction volumique des gamètes atrétiques
RP : Régression partielle
Rs : Respiration somatique
RT : Régression totale
Spc : Spermatocyte
Spg : Spermatogonie
Spz : Spermatozoïde
TPM : Total particulate matter ou matière particulaire totale
U : Excrétion

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARAYA-NUNES, O.; GANNING, B., and BUCKLE-RAMIREZ, R. Gonad maturity, induction of spawning, larval breeding, and growth in the american pearl-oyster (*Pteria sterna*, GOULD). Calif. Fish and Game. 1991; 77, (4): 181-193.
- BACHER, C. Capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron : couplage d'un modèle de transport particulaire et d'un modèle de croissance de l'huître *Crassostrea gigas*. Aquat. Living Resour. 1989; 2, 199-214.
- BAYNE, B. L. Marine mussels : their ecology and physiology. Cambridge University Press. 1976: 506.
- BAYNE, B. L.; GABBOTT, P. A., and WIDDOWS, J. Some effects of stress in the adult on the eggs and larvae of *Mytilus edulis* L. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 1975; 55, 675-689.
- BAYNE, B. L. and NEWELL, R. C. Physiological energetics of marine molluscs. The mollusca. 1983; 4, 407-515. 3.
- BENSCH, A.; BACHER, C.; BAUD, J. P., and MARTIN, J. L. Modélisation de la croissance de *Ruditapes philippinarum* dans un système expérimental. Ifremer, Actes de colloques. 1992; 13, 71-82. 15.
- BERRY, P. F. Reproduction, growth and production in the mussel, *Perna perna* (Linnaeus) on the east coast of South Africa. S. Afr. Ass. Mar. Ecol. Res., Oceanogr. Res. Inst.Rep. 1978: 48.
- BESNARD, J-Y. Etude des constituants lipidiques dans la gonade femelle et les larves de *Pecten maximus* L. (Mollusque Lamellibranche). Thèse Université de Caen. 1988: 154.
- BLANCHARD, M. Analyse fonctionnelle et méthodologique pour l'étude bioénergétique de mollusques. Direction de l'Environnement et des Recherches Océaniques, IFREMER, Projet EUPHORBE. 1989: 97. 2.
- BRODY, S. Bioenergetics and growth. edited in J.J. Beukema et W. De Bruin. 1945.
- BROUSSEAU, D. J. Gametogenesis and spawning in intertidal oysters (*Crassostrea virginica*) from western Long Island Sound. Journal of Shellfish Research. 1995; 14, (2): 483-487. 19.
- BUESTEL, D. and POUVREAU, S. Evolution spatio-temporelle de la matière en suspension, nourriture potentielle pour l'huître perlière, *Pinctada margaritifera*, dans le lagon d'atoll de Takapoto (Tuamotu, Polynésie Française). comm.pers. 1996.

- CALOW, P. The cost of reproduction - a physiological approach. *Biol. Rev.* 1979; 54, 23-40.
- CHAPARRO, O. R. and WINTER, J. E. The effect of winter period, gametogenesis and spawning on the calorific content of soft parts in *Mytilus chilensis*. *Aquaculture*. 1983; 32, 419-422. 53.
- CHARPY, L.; BLANCHOT, J., and LO, L. Contribution des cyanobactéries (*Synechococcus* spp.) à la production phytoplanctonique dans un lagon d'atoll fermé (Takapoto, Tuamotu, Polynésie Française).
- CHEVALIER, J. P.; DENIZOT, M.; RICARD, M.; SALVAT, B.; SOURNIA, A., and VASSEUR P. Géomorphologie de l'atoll de Takapoto. *J. Soc. Océanistes*. 1979; 62, 9-18.
- DESLOUS-PAOLI, J.-M. and HERAL, M. Biochemical composition and energy value of *Crassostrea gigas* (Thunberg) cultured in the bay of Marennes-Oleron. *Aquat. Living Resour.* 1988; 1, 239-249. 37.
- DESLOUS-PAOLI, J.-M. and HERAL, M. *Crepidulata fornicata* L. (Gastéropode, Calyptraeidae) dans le bassin de Marennes-Oléron : composition et valeur énergétique des individus et des pontes. *Oceanol. Acta*. 1986; 9, (3): 305-311. 17.
- DIBACCO, C.; ROBERT, G., and GRANT, J. Reproductive cycle of the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791), on Northeastern Georges Bank. *Journal of Shellfish Research*. 1995; 14, (1): 59-69. 27.
- DOLGOV, L. V. Short communication. Sex expression and environmental stress in a Mollusc, *Pinctada margaritifera*. *Inv. Reprod. Dev.* 1991; 20, (2): 121-124.
- DORANGE, G. Les gamètes de *Pecten maximus* L. (Mollusca, Bivalvia). Thèse, Université de Bretagne Occidentale. 1989: 133.
- FELIX-PICO, E. F.; IBARRA-CRUZ, M. T.; MERINO-MARQUEZ, R. E.; LEVY-PEREZ, V. A.; GARCIA-DOMINGUEZ, F. A., and MORALES-HERNANDEZ, R. Reproductive cycle of *Argopecten circularis* in Magdalena Bay, B.C.S., Mexico. *Ifremer, Actes de colloques*. 1991; 17, 151-155. 36.
- FRONTIER, S. Stratégies d'échantillonnage en écologie. Editions MASSON. 1983: 494.
- GABE, M. Techniques histologiques. 1968: 1113. 4.
- GARCIA-DOMINGUEZ, F.; CEBALLOS-VAZQUEZ, B. P., and QUEZADA, A. T. Spawning cycle of the pearl oyster, *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856), (Pteriidae) at Isla Espiritu Santo, Baja California Sur, Mexico. *Journal of Shellfish Research*. 1996; 15, (2): 297-303. 12.
- GRANT, C. M. and CREESE, R. G. The reproductive cycle of the tuatua *Paphies subtriangulata* (Wood, 1828), in New Zealand. *Journal of Shellfish Research*. 1995; 14, (2): 287-292. 26.
- GRIFFITHS, R. J. Production and energy flow in relation to age and shore level in the bivalve

Choromytilus meridionalis (Kr.). Estuar. Coast. Shelf. Sci. 1981; 13, 477-493.

HERAL, M. and DESLOUS-PAOLI, J. M. Valeur énergétique de la chair de l'huître *Crassostrea gigas* estimée par mesures microcalorimétriques et par dosages biochimiques. Oceanol. Acta. 1983; 6, (2): 193-199.

HIRSHFIELD, M. F. and TINKLE, D. W. Natural selection and the evolution of reproductive effort. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A. 1975; 72, 2227-2231.

HOOKE, S. H. and CREESE, R. G. The reproductive biology of pipi, *Paphies australis* (Gmelin, 1790). I. temporal patterns of the reproductive cycle. Journal of Shellfish Research. 1995; 14, (1): 7-15. 25.

JARAMILLO, R. and NAVARRO, J. Reproductive cycle of the chilean ribbed mussel *Aulacomya ater* (Molina, 1782). Journal of Shellfish Research. 1995; 14, (1): 165-171. 7.

KENNEDY, V. S. and KRANTZ, L. B. Comparative gametogenetic and spawning patterns of the oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) in central Chesapeake Bay. Journal of Shellfish Research. 1982; 2, (2): 133-140. 51.

LEFORT, Y. and CLAVIER, J. Reproduction of *Annachlamys flabellata*, *Comptopallium radula* and *Mimachlamys gloriosa* (Mollusca : Pectinidae) in the south-west lagoon of New Caledonia. Aquat. Living Resour. 1994; 7, 39-46. 39.

LOOSANOFF, V. L. Seasonal changes in the adult oysters, *Ostrea virginica*, of Long Island Sound. Biol.Bull. 1942; 83, 195-206. 47.

LUBET, P.; DEVAUCHELLE, N.; MUZELLE, M. L.; PAULET, Y. M.; FAVERIS, R., and DAO, J. C. Reproduction of *Pecten maximus* from different fisheries areas : Rade de Brest, Baie de Saint-Brieuc, Baie de Seine. Ifremer, Actes de colloques. 1991; 17, 157-163. 34.

LUCAS, A. Bioénergétique des animaux aquatiques. Editions Masson. 1992: 179. 1.

LUCAS, A. Remarques sur les rendements de production chez les bivalves marins. Haliotis. 1982; 12, 47-60. 5.

LUCAS, A.; CALVO, J., and TRANCART, M. L'effort de reproduction dans la stratégie démographique de six bivalves de l'Atlantique. Haliotis. 1978; 9, 107-116.

MACDONALD, B. A. and THOMPSON, R. J. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. II. Reproductive output and total production. Mar. Ecol. Prog. Ser. 1985; 25, 295-303. 40.

MACDONALD, B.A. and THOMPSON, R. J. Influence of temperature and food availability on the ecological energetics of the giant scallop *Placopecten magellanicus*. III. Physiological ecology, the gametogenetic cycle and scope for growth. Mar. Biol. 1986; 93, 37-48. 41.

MAGNIER, Y. and WAUTHY, B. Esquisse hydrologique du lagon de Takapoto (Tuamotu). Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Océanogr. 1976; XIV, (4): 279-287.

MANN, R. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in

Crassostrea gigas and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. Mar. Biol. 1979; 59, 95-110. 13.

MILLOUS, O. Essai de production contrôlée du naissain d'huître perlière (*Pinctada margaritifera*) en laboratoire. Rapp. CNEXO/COP/AQ. 1980: 32.

MILLOUS, O. Etude des possibilités de production de naissain de Nacres en laboratoire. Rapp. CNEXO/COP/AQ. 1976: 29.

MORETEAU, J. C. Relations entre les variations annuelles de température et la fréquence des dates de ponte chez *Littorina rudis* (Mollusque, prosobranch). J. moll. Stud. 1983; 12A, 111-115. 18.

NAVARRO, E. and IGLESIAS, J. I. P. Energetics of reproduction related to environmental variability in bivalve molluscs. Haliotis. 1995; 24, 43-55. 30.

RAILLARD, O.; DESLOUS-PAOLI, J.-M.; HERAL, M., and RAZET, D. Modélisation du comportement nutritionnel et de la croissance de l'huître japonaise *Crassostrea gigas*. Oceanol. Acta. 1993; 16, (1): 73-82. 42.

RANSON, G. Les espèces d'huîtres perlières du genre *Pinctada*. Mémoires Institut Royal Sc. Nat. Belgique. 1961: 95.

RANSON, G. Un rapport sur l'huître perlière dans les E.F.O. Rapport, Etablissement Français de l'Océanie, Paris. 1952: 76 .

RENON, J. P. Zooplancton du lagon de l'atoll de Takapoto (Polynésie française). Ann. Inst. océanogr. 1977; 53, (2): 217-236.

RICHARD, G., 1987. Evolution de l'extension des mortalités massives de mollusques autres que la nacre (Bénitiers, Spondyles, Arches, etc.) à Takapoto. Muséum National d'histoire naturelle. 1897 (17) : 1-54.

ROUGERIE, F., 1979. L'environnement de l'Atoll de Takapoto-Tuamotu. Caractéristiques générales du milieu liquide lagunaire de l'atoll de Takapoto. J. Soc. Océanistes, 33 (62) : 35-45.

ROUGERIE, F., 1995. Nature et fonctionnement des atolls des Tuamotu (Polynésie Française). Oceanol. Acta. 18 (1) : 61-78.

47.ROBERT, R.; TRUT, G., and LABORDE, J. L. Growth, reproduction and gross biochemical composition of the manila clam *Ruditapes philippinarum* in the Bay of Arcachon, France. Mar. Biol. 1993; 116, 291-299.

RODHOUSE, P. G.; RODEN, C. M.; BURNELL, G. M.; HENSEY, M. P.; McMAHON, T.; OTTWAY, B., and RYAN, T. H. Food resource, gametogenesis and growth of *Mytilus edulis* on the shore and in suspended culture : Killary Harbour, Ireland. Mar. Biol. 1984; 64, 513-529. 49.

ROMAN, G. and ACOSTA, C. P. Reproductive and reserve storage cycles in *Pecten maximus* reared in suspension. I. soft tissue growth and reproduction. Ifremer, Actes de colloques. 1995; 17, 183-187. 32.

SALVAT, B. and RICHARD, G., 1985. Atoll de Takapoto, Archipel des Tuamotu. Proc. 5th. Int. Coral Reef Congr., Tahiti, May 1985 : 325-367.

SCHERRER, B. Biostatistiques. Editions Gaëtan MORIN. 1984: 850.

SHAFEE, M. S. Reproduction of *Perna Picta* (Mollusca : bivalvia) from the Atlantic coast of Morocco. Mrr. Ecol. Prog. Ser. 1989; 53, 235-245. 43.

SHPIGEL, M. Gametogenesis of the European Flat Oyster (*Ostrea edulis*) and Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) in warm water in Israel. Aquaculture. 1989; 80, 343-349. 54.

SOLECHNIK, P.; GEAIRON, P.; RAZET, D., and GOULLETQUER, P. Physiologie de la maturation et de la ponte chez l'huître creuse *Crassostrea gigas*. Rapport Interne de la Direction des Ressources Vivantes de l'IFREMER. 1996: 1-23.

SOURNIA, A., RICARD, M., 1976. Données sur l'hydrologie et la productivité du lagon d'un atoll fermé (Takapoto, Iles Tuamotu). Vie et milieu, B 26 (2) : 243-279.

STEPHEN, D. The reproductive biology of the indian oyster *Crassostrea madrasensis* (Preston), Gametogenetic cycle and biochemical levels. Aquaculture. 1980; 21, 147-153. 10.

STEPHEN, D. The reproductive biology of the indian oyster *Crassostrea madrasensis* (Preston), Gametogenetic pattern and salinity. Aquaculture. 1980; 21, 139-146. 9.

TAYLOR, A. C. and VENN, T. J. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop, *Chlamys opercularis*, from the Clyde sea area. Mar. Biol. 1979; 59, 605-621. 38.

THIELLEY, M. Approches bibliographique et expérimentale de méthodes permettant d'évaluer l'état de maturité sexuelle des bivalves. Rapport interne IFREMER. 1995. 58.

THIELLEY, M. Etude cytologique de la gamétogenèse, de la sex-ratio et du cycle de reproduction chez l'huître perlière *Pinctada margaritifera* (L) var. *cumingii* (Jameson), (mollusques, bivalves). Comparaison avec le cycle de *Pinctada maculata* (Gould). Thèse, Université Française du Pacifique. 1993: 233. 6.

THOMPSON, R. J. Production, reproductive effort, reproductive value cost in a population of the blue mussel *Mytilus edulis* from a subarctic environment. Mar. Ecol. Prog. Ser. 1984; 16, 249-257. 11.

TRANter, D. J. Reproduction in australian pearl oysters (Lamellibranchia). I. *Pinctada albina* (Lamarck) : primary gonad development. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 1958; 9, (1): 135-143. 23.

TRANter, D. J. Reproduction in australian pearl oysters (Lamellibranchia). II. *Pinctada albina* (Lamarck) : gametogenesis. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 1958; 9, (1): 144-158. 24.

TRANter, D. J. Reproduction in australian pearl oysters (Lamellibranchia). III. *Pinctada albina* (Lamarck) : Breeding season and sexuality. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 1958; 9, (2): 191-216. 21.

TRANter, D. J. Reproduction in australian pearl oysters (Lamellibranchia). IV. *Pinctada*

margaritifera (Linnaeus). Aust. J. Mar. Freshw. Res. 1958; 9, (4): 511-525. 20.

TRANTER, D. J. Reproduction in australian pearl oysters (Lamellibranchia). V. *Pinctada fucata* (Gould). Aust. J. Mar. Freshw. Res. 1958; 10, (1): 45-66. 22.

VELEZ, A. and EPIFANIO, C. E. Effects of temperature and ration on gametogenesis and growth in the tropical mussel *Perna perna* (L.). quaculture. 1981; 22, 21-26.

WILLIAMS, G. C. Natural selection, the costs of reproduction and a refinement of Lack's principle. Am. Nat. 1966; 100, 87-690.

ANNEXES

- Annexe n°1 :* Détermination des mensurations.
- Annexe n°2 :* Protocole d'histologie.
- Annexe n°3 :* Protocole de dosages des protéines, lipides, glucides.
- Annexe n°4 :* Protocole de calorimétrie.
- Annexe n°5 :* Intervalles de confiance des stades de maturité macroscopiques.
- Annexe n°6 :* Intervalles de confiance des stades de maturité microscopiques.

PROTOCOLES DE BIOMETRIE

HAUTEUR EXTERIEUR : Elle est mesurée à la règle métallique souple, épousant la forme de la coquille, de la face dorsale (bord de la charnière) à la face ventrale (base des barbes de croissance).

HAUTEUR INTERIEUR : Les limites sont les mêmes que pour la hauteur extérieur mais la mesure est prise côté interne.

HAUTEUR DE NACRE : Elle est mesurée à la règle du bord de la face dorsale jusqu'à la limite de la couche nacrée de l'intérieur de la coquille.

LARGEUR DU TALON : Elle est mesurée sur la valve droite dans l'épaisseur de nacre de la charnière à l'endroit le plus épais.

LARGEUR DE NACRE : Il s'agit de la plus grande largeur de nacre mesurée parallèlement à la largeur du talon.

PROTOCOLE D'HISTOLOGIE

- 1- **DISSECTION** de l'ensemble gonade + glande digestive et prélèvement d'un échantillon de gonade d'environ 1 cm de côté.

- 2- **FIXATION** des pièces.

Le fixateur utilisé est le liquide de BOUIN-HOLLANDE (stockage à température ambiante):

- 500 ml d'eau distillée
- 12.5 g d'acétate de cuivre
- 20 g d'acide picrique
- 50 ml de formol
- 5 ml d'acide acétique

La fixation doit débuter immédiatement après la dissection, sur des organes encore vivants.

Les pièces sont placées dans un volume de fixateur 10 fois supérieur à leur volume, pendant une durée minimum de 72 heures.

Le fixateur peut être filtré et réutilisé.

- 3- **DESHYDRATATION**

par 3 bains successifs de butanol-1, d'une durée de 24 heures chacun.

Chaque bain doit être réalisé à partir de produit neuf.

Inconvénients de la méthode : - délais assez longs,

- absence de modification de l'allure des pièces rendant impossible l'appréciation de la qualité d'imprégnation.

- 4- **INCLUSION** en paraffine

Débuter par 3 bains de paraffine liquide (étuve à 60°C) d'une durée de 24 heures chacun.

Préparation des blocs.

5- CONFECTION DES COUPES au microtome

Préparer des coupes de 4 microns.

6- COLLAGE DES COUPES

Préparer une solution d'eau gélatinée à 0.2 % (préparation extemporanée).

Placer une lame propre sur une plaque chauffante et y déposer une goutte d'eau gélatinée.

Déposer ensuite la coupe et laisser sécher plusieurs heures.

7- COLORATION AU GIEMSA

- Déparaffinage et déshydratation :

- bain xylène.....5 mn
- bain xylène.....5 mn
- bain alcool 100°.....5 mn
- bain alcool 95°.....5 mn
- bain alcool 70°.....5 mn
- bain eau distillée.....10 mn

- Coloration par bain dans du GIEMSA pendant 1 heure.

Solutions stock :

GIEMSA : GIEMSA R.....1 g
Méthanol.....50 ml
Glycérol.....50 ml

Laisser à l'étuve 48 h puis filtrer.

TAMPON 1 : 2.1 g d'acide citrique hydraté pour 100 ml d'eau distillée (ou 1.9 g d'acide citrique déshydraté).

TAMPON 2 : 1,42 g de Na_2HPO_4 pour 100 ml d'eau distillée

Solution extemporanée de GIEMSA (pour 25 lames) :

- 190 ml d'eau distillée
- 6,75 ml d'acide citrique (tampon 1)
- 8,75 ml de Na_2HPO_4 (tampon 2)
- 15 ml de solution stock de GIEMSA
- 37.5 ml d'acétone

- Déshydratation :

- bain acétone.....5 mn
- bain acétone/xylène.....5 mn
- bain xylène.....10 mn

8- MONTAGE DES COUPES

Placer une goutte de colle synthétique EUKITT sur la lame et appliquer une lamelle à dimension.

Laisser sécher, observer.

DOSAGE DES PROTEINES, LIPIDES, GLUCIDES

1 - PRINCIPE

Dosage des protéines

Les protéines sont dosées à partir de la méthode de LOWRY et al. (1951). Elle permet de doser les liaisons amides des protéines et les acides aminés : tyrosine et tryptophane. Cette méthode se caractérise par la formation d'un complexe cuivrique des protéines qui réduit le phosphomolybdate en milieu basique (apparition d'une coloration bleu violacée). La lecture de la densité optique est réalisée à 750 nm. La gamme étalon est réalisée à partir d'albumine de boeuf.

Dosage des lipides

La méthode de dosage des lipides est dérivée de la méthode de BLIGHT et DYER (1959) et MARSH et WENSTEIN (1966). L'extraction des lipides contenus dans les tissus est réalisée à froid dans un mélange méthanol-chloroforme dans des proportions telles que l'adjonction d'eau permette de séparer deux phases : la phase lipidique contenue par le chloroforme et la phase non lipidique contenue par le mélange eau-méthanol. L'extrait lipidique est obtenu par évaporation du chloroforme. L'hydrolyse à chaud des acides gras par l'acide sulfurique concentré révèle une coloration brune. La lecture de la densité optique s'effectue à 360 nm après dilution dans l'eau distillée. Une gamme étalon de référence est réalisée à partir de tripalmitate.

Dosage des glucides

La méthode utilisée est celle de DUBOIS (1956). En présence d'un acide fort, les pentoses donnent du furfural et les hexoses du 5-hydroxyméthyl-furfural. Les furfurals ainsi obtenus se combinent avec le phénol pour donner un complexe coloré rouge brun. L'absorbance est alors lue à 490 nm avec une gamme étalon réalisée à partir d'une solution mère de glucose.

2 - PROTOCOLES EXPERIMENTALES

Les dosages biochimiques sont réalisés sur des broyats d'organes. Les chairs ont, au préalable, été réduites en fine poudre à l'aide d'un moulin à café puis d'un broyeur à bille, de type FRITSCH Vibratory Sieve Shaker.

Protocoles de dosages, cf. schémas pages suivantes.

PROTOCOLE DE CALORIMETRIE

1- PRINCIPE

Des échantillons compactés d'organe, dont on veut déterminer la valeur énergétique, sont brûlés dans une bombe calorimétrique.

Le calorimètre utilisé est le modèle **PAAR 1425**.

2- MODE OPERATOIRE

Echantillon :

Les mesures de calorimétrie sont réalisées sur des organes broyés. Les chairs sont, au préalable, réduites en fine poudre à l'aide d'un moulin à café puis d'un broyeur à bille, de type FRITSCH Vibratory Sieve Shaker.

Installation de l'échantillon :

Peser un échantillon préalablement compressé avec la presse à pastiller. Peser environ 0,2g d'échantillon.

Couper 10 cm de fusible et l'attacher sur les contacts de la bombe calorimétrique.

Placer l'échantillon dans une nacelle puis le tout dans la bombe et la fermer.

Oxygénation :

Envoyer 30 atm d'oxygène.

Préparation du bain :

Peser le récipient recevant la bombe et ajouter de l'eau distillée jusqu'à atteindre 1042g puis le replacer dans l'enceinte du calorimètre.

Installation de la bombe :

Attacher les fils de mise à feu à la bombe.

Immerger la bombe dans l'enceinte du calorimètre.

Poser le support de la bombe sur le couvercle et vérifier l'étanchéité.

Programmation de l'appareil :

Rentrer le numéro d'échantillon ainsi que son poids.

Le résultat est affiché à l'écran au bout d'environ 12 minutes. Il est donné en MJ/kg.

Bien nettoyer le calorimètre après chaque utilisation et entre chaque échantillon.

Etalonner avec des pastilles d'acide benzoïque.

INTERVALLES DE CONFIANCE DES STADES DE MATURITE MACROSCOPIQUES POUR LES TROIS STOCKS

STOCK 1 :

Date	Lim. inf. IC	% macr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 2	Lim. sup. IC
25-mars	27.1	42.5	58.9	31.5	47.5	63.8	2.8	10	23.7
8-avr	20.6	35	51.5	36.2	52.5	68.5	2.8	10	23.7
22-avr	12.7	25	41.2	29.3	45	61.4	7.4	17.5	32.8
6-mai	41.1	57.5	72.9	20.6	35	51.5	0	2.5	13.1
20-mai	51	67.5	81.4	12.7	25	41.2	1.6	7.5	20.4
3-juin	43.5	60	75.1	10.8	22.5	38.5	5.7	15	29.8
17-juin	16.6	30	46.5	20.6	35	51.5	9	20	35.7
1-juil	58.8	75	87.3	4.2	12.5	26.8	0.6	5	16.9
15-juil	67.2	82.5	92.6	1.6	7.5	20.4	2.8	10	23.7
30-juil	10.8	22.5	38.5	16.6	30	46.5	16.6	30	46.5
		macr 3			macr 4				
25-mars	0	0	8.8	0	0	8.8			
8-avr	0	2.5	13.1	0	0	8.8			
22-avr	4.2	12.5	26.8	0	0	8.8			
6-mai	0.6	5	16.9	0	0	8.8			
20-mai	0	0	8.8	0	0	8.8			
3-juin	0	2.5	13.1	0	0	8.8			
17-juin	5.7	15	29.8	0	0	8.8			
1-juil	0.6	5	16.9	0	2.5	13.1			
15-juil	0	0	8.8	0	0	8.8			
30-juil	5.7	15	29.8	0	2.5	13.1			

STOCK 2 :

Date	Lim. inf. IC	% macr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 2	Lim. sup. IC
25-mars	0	0	8.8	4.2	12.5	26.8	36.2	52.5	68.5
8-avr	0	0	8.8	16.6	30	46.5	36.2	52.5	68.5
22-avr	0	2.5	13.1	12.7	25	41.2	22.7	37.5	54.2
6-mai	1.6	7.5	20.4	22.7	37.5	54.2	31.5	47.5	63.8
20-mai	0	0	8.8	0	2.5	13.1	16.6	30	46.5
3-juin	7.4	17.5	32.8	48.5	65	79.4	7.4	17.5	32.8
17-juin	0	2.5	13.1	24.9	40	56.5	20.6	35	51.5
1-juil	9	20	35.7	18.6	32.5	49	24.9	40	56.5
15-juil	0.6	5	16.9	2.8	10	23.7	18.6	32.5	49
30-juil	0	0	8.8	0.6	5	16.9	31.5	47.5	63.8
		macr 3			macr 4				
25-mars	20.6	35	51.5	0	0	8.8			
8-avr	4.2	12.5	26.8	0.6	5	16.9			
22-avr	16.6	30	46.5	0.6	5	16.9			
6-mai	1.6	7.5	20.4	0	0	8.8			
20-mai	48.5	65	79.4	0	2.5	13.1			
3-juin	0	0	8.8	0	0	8.8			
17-juin	10.8	22.5	38.5	0	0	8.8			
1-juil	1.6	7.5	20.4	0	0	8.8			
15-juil	31.5	47.5	63.8	0.6	5	16.9			
30-juil	22.7	37.5	54.2	2.8	10	23.7			

STOCK 3:

Date	Lim. inf. IC	% macr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% macr 2	Lim. sup. IC
25-mars	0	0	8.8	0	0	8.8	4.2	12.5	26.8
8-avr	0	0	8.8	0	2.5	13.1	10.8	22.5	38.5
22-avr	0	0	8.8	2.8	10	23.7	9	20	35.7
6-mai	0	0	8.8	1.6	7.5	20.4	22.7	37.5	54.2
20-mai	0	0	8.8	0	0	8.8	16.6	30	46.5
3-juin	0.6	5	16.9	27.1	42.5	58.9	33.8	50	66.2
17-juin	0	2.5	13.1	7.4	17.5	32.8	27.1	42.5	58.9
1-juil	0.6	5	16.9	16.6	30	46.5	22.7	37.5	54.2
15-juil	0	2.5	13.1	7.4	17.5	32.8	20.6	35	51.5
30-juil	0	0	8.8	0	0	8.8	27.1	42.5	58.9
		macr 3			macr 4				
25-mars	53.5	70	83.4	7.4	17.5	32.8			
8-avr	51	67.5	81.4	1.6	7.5	20.4			
22-avr	48.5	65	79.4	0.6	5	16.9			
6-mai	33.8	50	66.2	0.6	5	16.9			
20-mai	33.8	50	66.2	9	20	35.7			
3-juin	0	2.5	13.1	0	0	8.8			
17-juin	20.6	35	51.5	0	2.5	13.1			
1-juil	12.7	25	41.2	0	2.5	13.1			
15-juil	16.6	30	46.5	5.7	15	29.8			
30-juil	18.6	32.5	49	12.7	25	41.2			

INTERVALLES DE CONFIANCE DES STADES DE MATURITE MICROSCOPIQUES POUR LES TROIS STOCKS

STOCK 1 :

Date	Lim. inf. IC	% micr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 2	Lim. sup. IC
25-mars	0	0	30.85	0.25	10	44.5	6.67	30	65.25
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95
22-avr	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95	0	0	21.8
6-mai	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
20-mai	0	0	21.8	4.33	20	48.09	11.82	33.333	61.62
3-juin	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95	0.17	6.6667	31.95
17-juin	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
1-juil	0.17	6.6667	31.95	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95
15-juil	0	0	21.8	1.66	13.3	40.46	4.33	20	48.09
30-juil	78.2	0	100	0.17	6.7	31.95	0.17	6.7	31.95
		micr 3			micr 4			micr rp	
25-mars	0.25	10	44.5	0.25	10	44.5	0.25	10	44.5
8-avr	0	0	21.8	51.91	80	95.67	1.66	13.333	40.46
22-avr	4.33	20	48.09	21.27	46.667	73.41	1.66	13.333	40.46
6-mai	0.17	6.6667	31.95	26.59	53.333	78.73	11.82	33.333	61.62
20-mai	4.33	20	48.09	0	0	21.8	0	0	21.8
3-juin	4.33	20	48.09	1.66	13.333	40.46	26.59	53.333	78.73
17-juin	0	0	21.8	51.91	80	95.67	1.66	13.333	40.46
1-juil	16.34	40	67.71	4.33	20	48.09	4.33	20	48.09
15-juil	16.34	40	67.71	1.66	13.3	40.46	0.17	6.7	31.95
30-juil	1.66	13.3	40.46	16.34	40	67.71	7.79	26.7	55.1
		micr rp			micr I				
25-mars	0	0	30.85	6.67	30	65.25			
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8			
22-avr	0	0	21.8	1.66	13.333	40.46			
6-mai	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95			
20-mai	0	0	21.8	7.79	26.667	55.1			
3-juin	0	0	21.8	0	0	21.8			
17-juin	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95			
1-juil	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95			
15-juil	0	0	21.8	0.17	6.7	31.95			
30-juil	0	0	21.8	0.17	6.7	31.95			

STOCK 2 :

Date	Lim. inf. IC	% micr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 2	Lim. sup. IC
25-mars	0	0	30.85	0	0	30.85	0	0	30.85
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95
22-avr	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
6-mai	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
20-mai	0	0	21.8	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95
3-juin	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
17-juin	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
1-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95
15-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	1.66	13.3	40.46
30-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
		micr 3			micr 4			micr rp	
25-mars	2.52	20	55.61	18.71	50	81.29	6.67	30	65.25
8-avr	16.34	40	67.71	21.27	46.667	73.41	0.17	6.6667	31.95
22-avr	7.79	26.667	55.1	26.59	53.333	78.73	4.33	20	48.09
6-mai	16.34	40	67.71	4.33	20	48.09	16.34	40	67.71
20-mai	0.17	6.6667	31.95	21.27	46.667	73.41	16.34	40	67.71
3-juin	0	0	21.8	0.17	6.6667	31.95	68.05	93.333	99.83
17-juin	7.79	26.667	55.1	26.59	53.333	78.73	4.33	20	48.09
1-juil	0	0	21.8	26.59	53.333	78.73	11.82	33.333	61.62
15-juil	7.79	26.7	55.1	21.27	46.7	73.41	1.66	13.3	40.46
30-juil	4.33	20	48.09	21.27	46.7	73.41	7.79	26.7	55.1
		micr rt			micr I				
25-mars	0	0	30.85	0	0	30.85			
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8			
22-avr	0	0	21.8	0	0	21.8			
6-mai	0	0	21.8	0	0	21.8			
20-mai	0	0	21.8	0	0	21.8			
3-juin	0	0	21.8	0	0	21.8			
17-juin	0	0	21.8	0	0	21.8			
1-juil	0.17	6.6667	31.95	0	0	21.8			
15-juil	0	0	21.8	0	0	21.8			
30-juil	0	0	21.8	0.17	6.7	31.95			

STOCK 3 :

Date	Lim. inf. IC	% micr 0	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 1	Lim. sup. IC	Lim. inf. IC	% micr 2	Lim. sup. IC
25-mars	0	0	30.85	0	0	30.85	0.25	10	44.5
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
22-avr	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
6-mai	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
20-mai	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
3-juin	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
17-juin	0	0	21.8	0	0	21.8	4.33	20	48.09
1-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
15-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	4.33	20	40.46
30-juil	0	0	21.8	0	0	21.8	0	0	21.8
		micr 3			micr 4			micr rp	
25-mars	2.52	20	55.61	12.16	40	73.76	6.67	30	65.25
8-avr	0	0	21.8	59.54	86.667	98.34	1.66	13.333	40.46
22-avr	7.79	26.667	55.1	4.33	20	48.09	26.59	53.333	78.73
6-mai	4.33	20	48.09	11.82	33.333	61.62	21.27	46.667	73.41
20-mai	0.17	6.6667	31.95	4.33	20	48.09	44.9	73.333	92.21
3-juin	1.66	13.333	40.46	7.79	26.667	55.1	32.29	60	83.66
17-juin	1.66	13.333	40.46	7.79	26.667	55.1	16.34	40	67.71
1-juil	0	0	21.8	4.33	20	48.09	51.91	80	95.67
15-juil	4.33	20	48.09	16.34	40	67.71	4.33	20	48.09
30-juil	7.79	26.67	55.1	21.27	46.67	73.41	7.79	26.67	55.1
		micr rt			micr I				
25-mars	0	0	30.85	0	0	30.85			
8-avr	0	0	21.8	0	0	21.8			
22-avr	0	0	21.8	0	0	21.8			
6-mai	0	0	21.8	0	0	21.8			
20-mai	0	0	21.8	0	0	21.8			
3-juin	0	0	21.8	0	0	21.8			
17-juin	0	0	21.8	0	0	21.8			
1-juil	0	0	21.8	0	0	21.8			
15-juil	0	0	21.8	0	0	21.8			
30-juil	0	0	21.8	0	0	21.8			