



**RANDRIANANJA Guillaume**

**Evolution de la maturation  
de *Mytilus edulis* sur deux sites d'élevage  
du pertuis Breton : bouchots et filières.**

**REMOULA 2004-2005**

# Sommaire

<b>1- Introduction</b>	<b>3</b>
<b>2- Matériel et méthodes</b>	<b>4</b>
<b>2-1- Présentation de l'espèce</b>	<b>4</b>
2-1-1- Généralités	4
2-1-2- Reproduction et développement	4
<b>2-2- Le réseau REMOULA</b>	<b>5</b>
2-2-1- Les sites	5
2-2-2- Méthodes d'élevage	6
2-2-3- Suivi annuel	8
<b>2-3- Sélection du prélèvement à étudier</b>	<b>8</b>
<b>2-1- La fixation</b>	<b>8</b>
<b>2-4- Réalisation des coupes</b>	<b>9</b>
2-4-1- Préparation des échantillons de moules pour l'histologie	9
2-4-3- Déshydratation et imprégnation des échantillons	10
2-4-4- Inclusion des échantillons	11
2-4-5- Confection des coupes	13
2-4-6- Coloration et montage des lames	15
<b>2-5- Préparation des références pour la lecture au microscope</b>	<b>17</b>
<b>2-6- Lecture des lames</b>	<b>17</b>
<b>3- Résultats</b>	<b>19</b>
<b>3-1- Répartition des sexes</b>	<b>19</b>
<b>3-2- Evolution du stade de maturation par sexe</b>	<b>20</b>
<b>3-3- Evolution des cycles gonadiques regroupés</b>	<b>22</b>
<b>3-4- Evolution des cycles gonadiques détaillés</b>	<b>24</b>
<b>3-5- Composition en glycogène en 2004-2005</b>	<b>26</b>
<b>4- Discussion</b>	<b>28</b>
<b>5- Conclusion</b>	<b>30</b>
<b>6- Bibliographie</b>	<b>31</b>

## Annexes

## Remerciements

Avant tout, je remercie Stéphane ROBERT de m'avoir accueilli au sein du LERPC de la Tremblade.

Je remercie également ensuite Sylvie FERRAND qui a assuré un très bon encadrement par son aide et par sa disponibilité durant ce stage.

Je tiens aussi à remercier tous les autres techniciens du laboratoire d'histologie de la Tremblade (B. CHOLET, M. ROBERT) et la secrétaire Sylvie TAILLADE.

## 1- Introduction

La région Poitou-Charentes est le premier centre conchylicole français et européen ([http référence 6](#)). La conchyliculture (mytiliculture et ostréiculture) est un secteur qui représente une activité économique importante pour la région, principalement en Charente-Maritime, avec le tourisme et l'agriculture .

Dans le département de la Charente-Maritime, la mytiliculture est une vraie tradition. Pour obtenir des moules de qualité il faut 12 à 18 mois. Malgré ce temps d'élevage court, les moules se reproduisent bien. Le littoral charentais est un lieu de captage de naissain important sur la côte atlantique. Il est pour cela intéressant d'étudier la maturation de la moule bleue *Mytilus edulis* dans le pertuis Breton pour la resituer dans des références bibliographiques, en comparaison des travaux de Lubet dans le bassin d'Arcachon sur *Mytilus edulis* (1959) et de Suarez sur *Mytilus galloprovincialis* en Espagne (2005).

La station Ifremer de La Tremblade est spécialisée dans les domaines de la surveillance du littoral et de la conchyliculture. Dans le domaine conchylicole, ses zones d'activités s'étendent sur l'ensemble des pertuis charentais, du sud de la Vendée à l'estuaire de la Gironde. C'est dans son laboratoire d'histologie que se fera l'étude des différents stades de maturation de la moule *Mytilus edulis* par observations au microscope de coupes de gonades sur lames préparées. Mon objectif est d'étudier, sur une année, la maturation de moules prélevées sur deux sites avec des conditions d'élevage différentes dans le pertuis Breton : les bouchots (site de l'Aiguillon) et les filières (site Filières).

## 2- Matériel et méthodes

### 2-1- Présentation de l'espèce

#### *2-1-1- Généralités*

La moule bleue, ou moule commune, *Mytilus edulis* appartient à l'embranchement des mollusques, à la classe des lamellibranches et à la famille des Mytilidés. C'est un bivalve de couleur noire bleuâtre. Elle vit dans les zones intertidales et dans les eaux peu profondes jusqu'à une dizaine de mètres de profondeur. Les moules se fixent sur divers substrats immergés comme les rochers, la pierre, le bois et même sur les coques des bateaux grâce aux filaments adhésifs qu'elles secrètent appelés byssus. Elles peuvent aussi se fixer les unes sur les autres formant de denses agrégats leurs permettant de mieux se protéger des vagues et du courant qui pourraient les décrocher. La moule est un animal qui vit en groupe sans organisation sociale particulière. Elle se nourrit de petite particule en suspension comme les algues microscopiques (phytoplancton) qu'elle récupère en filtrant l'eau de mer avec ses branchies.

#### *2-1-2- Reproduction et développement*

La moule est une espèce gonochorique, c'est-à-dire que les sexes sont séparés et les individus sont soit mâle, soit femelle, et il existe de rares cas d'hermaphrodisme. La gamétogenèse, formation des gamètes, a lieu dans de nombreux conduits présents essentiellement dans le manteau. La moule atteint sa maturité sexuelle au bout d'un an et demi et la période de reproduction a généralement lieu à la saison printemps-été. Les gamètes sont expulsés dans l'eau et la fécondation est externe. L'embryon sera très rapidement capable de se déplacer librement dans l'eau pour se nourrir et subira une succession de stades larvaires. Les larves pédivéligères du dernier stade larvaire se fixeront et se métamorphoseront pour devenir de jeunes moules appelées naissain (http référence 3, 2006).

## 2-2- Le réseau REMOULA

Le réseau REMOULA est un réseau de suivi de la croissance des moules dans les pertuis charentais mis en place par le LERPC (Laboratoire Environnement Ressources des Pertuis Charentais) de l'Ifremer de la Tremblade en 2000. Diverses informations sont relevées et comparées entre elles dans le but d'aider à établir l'évolution du classement des zones d'élevage et la prévision des rendements commerciaux sur les littoraux charentais et vendéens.

### *2-2-1- Les sites*

Le réseau REMOULA concerne six sites d'élevage repartis dans les deux pertuis charentais : le pertuis Breton et le pertuis d'Antioche. Les deux sites concernant cette étude sont le site de l'Aiguillon (bouchot) et le site Filières (élevage en filières), tous les deux localisés dans le pertuis Breton. Le pertuis Breton est un bras de mer situé entre la côte nord-est de l'île de Ré et le continent (fig. 1). La myticulture y est fortement présente avec notamment 9 000 tonnes produites en 2001 (Robert, 2001) .

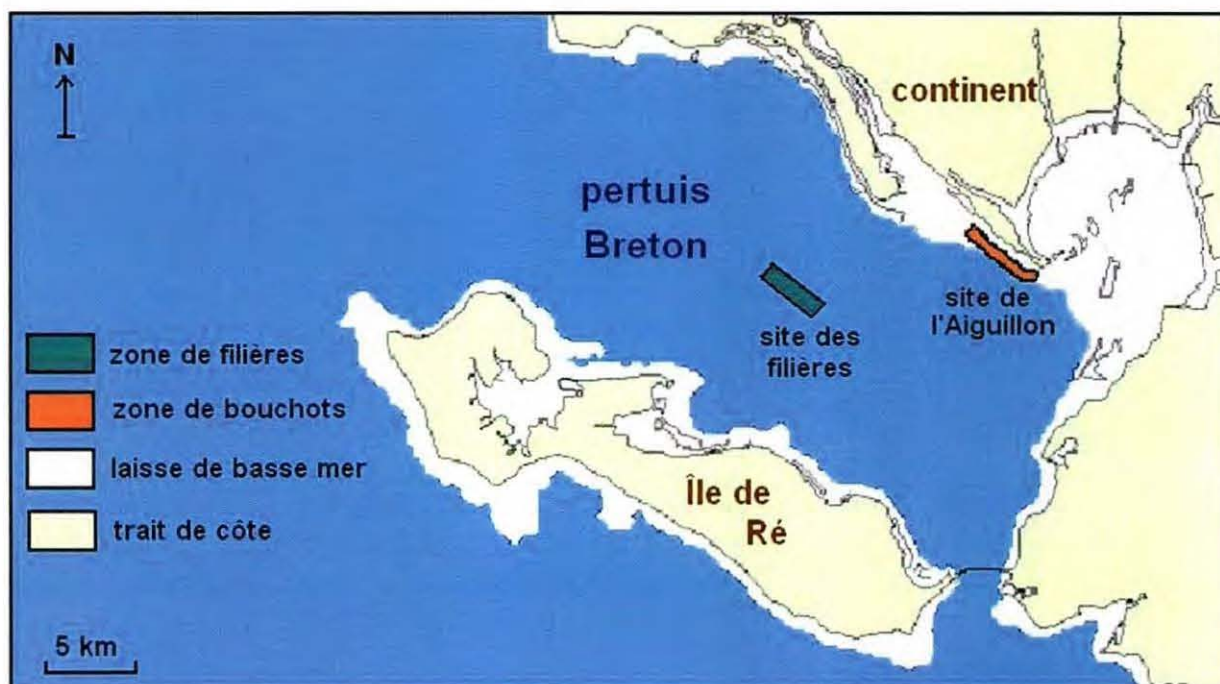


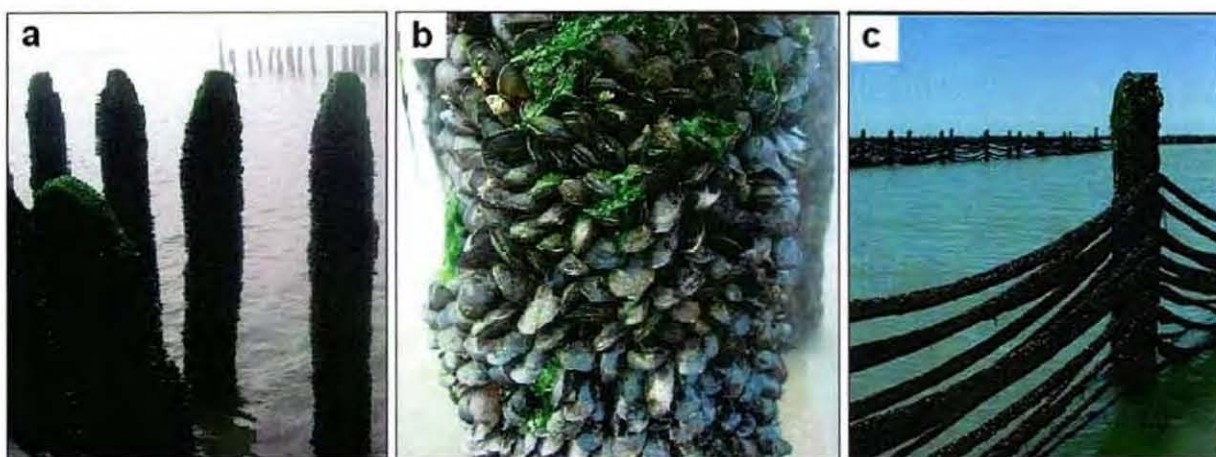
Figure 1. Positionnement géographique des sites d'élevage Aiguillon et filière.

### 2-2-2- Méthodes d'élevage

Pour permettre une comparaison entre les sites d'élevage, les moules utilisées ont la même origine, elles proviennent des filières du Pertuis Breton. Issues du captage de l'année précédente, elles ont été mises à l'eau à l'âge de 6 mois. 120 moules ont été mises à l'eau dans des paniers d'élevage individuels. Les paniers d'élevage ont été ensuite accrochés sur les bouchots de l'Aiguillon et sur les cordes immergées des filières. 14 paniers ont été mis à l'eau sur chaque site.

- Les bouchots

Dans le site de l'Aiguillon, les moules sont élevées en bouchots. Les bouchots sont constitués d'un ensemble de pieux plantés dans le sol (vaseux ou sableux). Répartis en rangées parallèles, les pieux sont recouverts de moules (fig. 2 a et b). Les bouchots sont situés dans la zone intertidale près de la côte du continent. Les moules y subissent l'influence de la marée : elles sont tantôt immergées, tantôt émergées, en fonction des coefficients de marée. Le naissain va venir se fixer sur des cordes en fibres de coco tendues horizontalement : c'est le captage (fig. 2 c). Le captage du naissain est printanier ([http référence 4](http://reference.4), 2006). Les cordes ensemencées sont ensuite attachées tout autour des pieux d'élevage. Les jeunes moules recouvrent progressivement la surface du pieu en grossissant jusqu'à atteindre la taille marchande. Le naissain peut aussi venir se fixer naturellement. La troisième possibilité est la mise en chaussette de moules prégrossies prélevées sur les filières ou supplément des moules en croissance sur les pieux de bouchot.



**Figure 2. Pieux de bouchots recouverts de moules et cordes de captage.**

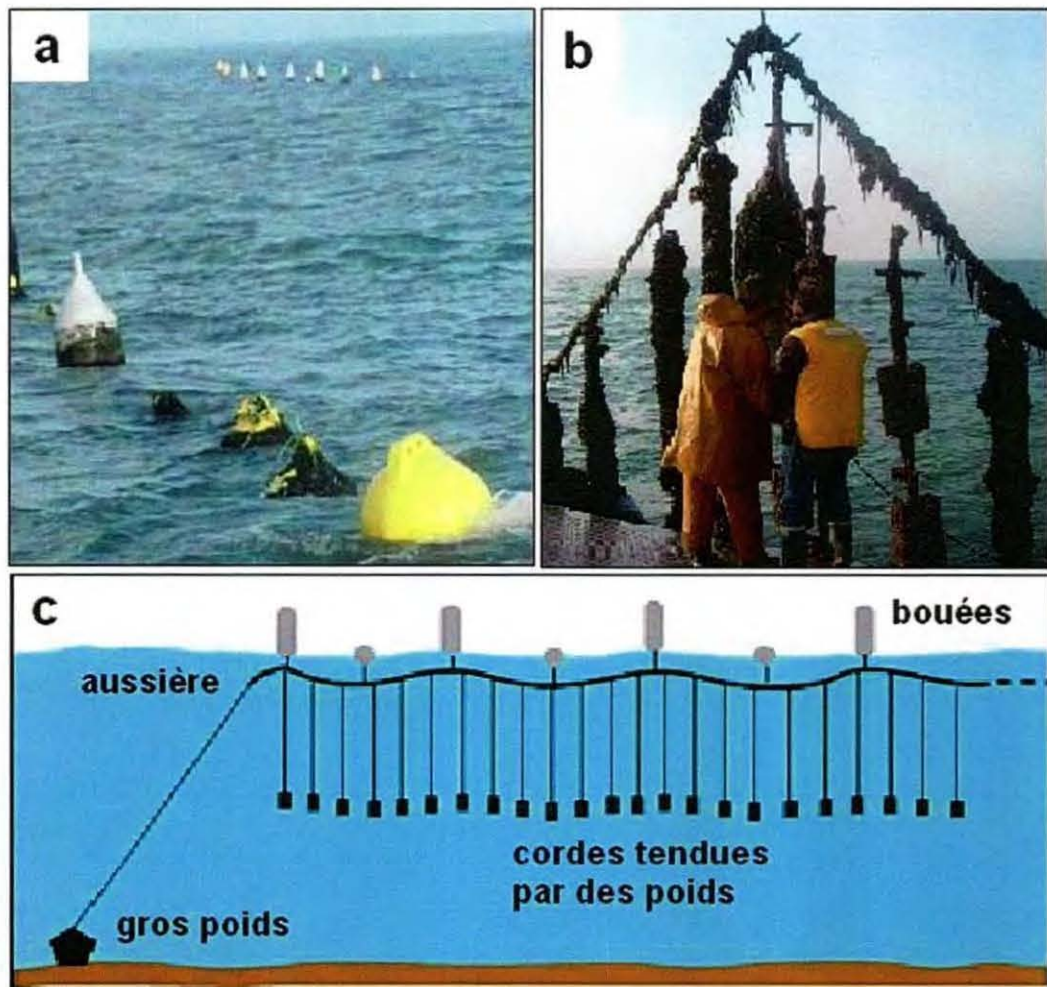
**a :** rangées de pieux de bouchots.

**b :** grosse densité de moules qui recouvrent toute la surface du pieu.

**c :** cordes de captage du naissain.

- Les filières

L'élevage sur filière est réalisé en pleine eau dans le pertuis Breton (fig. 1). Une filière est constituée d'une aussière ancrée, reliée à des bouées flottant à la surface, sur laquelle sont suspendues des cordes lestées (fig. 3 a et c). Les moules sont élevées sur ses cordes lestées toujours immergées (fig. 3 b).



**Figure 3. Positionnement des filières d'élevage** (http référence 4, 2006).

**a :** bouée flottant à la surface de la mer indiquant la position des filières.

**b :** prélèvement de moules sur les filières; l'aussière est relevée par la grue du bateau.

**c :** schéma de la disposition d'une filière dans la mer.

Les moules des filières sont aussi issues d'un naissain capté sur cordes de captage comme pour les bouchots.



### *2-2-3- Suivi annuel*

Deux types d'échantillonnage sont réalisés dans le réseau REMOULA : un échantillonnage trimestriel et un échantillonnage mensuel. L'échantillonnage trimestriel ne nous concerne pas, il correspond à une information saisonnière. Les paramètres biométriques sont mesurés et la mortalité enregistrée.

L'échantillonnage mensuel permet un suivi plus précis des paramètres biométriques de l'évolution biochimique de la chair des moules. La biométrie est réalisée sur 30 moules par prélèvement et par site (longueur de la coquille, poids total de l'animal, poids humide et sec de la chair et de la coquille).

### 2-3- Sélection du prélèvement à étudier

Quatre lots de prélèvements correspondant à quatre années (2001-2002, 2002-2003, 2003-2004 et 2004-2005) ont été faits au travers du réseau REMOULA. Les prélèvements mensuels ont été faits le même jour sur les deux sites Filières et Aiguillon. Les moules, âgées de 6 mois, sont mises à l'eau au mois de mars. Elles sont prélevées mensuellement à partir de la mise à l'eau pendant 12 mois. L'échantillon prélevé est de 30 moules sur chacun des deux sites.

Sur ces quatre années de suivi, certaines n'étaient pas complètes. Certains prélèvements n'ont pas pu avoir lieu dans les filières car les paniers de moules se sont décrochés (les filières étant soumises à de nombreuses contraintes comme les tempêtes). Deux années sont complètes : l'année 2003-2004 et l'année 2004-2005. L'année 2003-2004 est une année atypique du fait de la canicule de l'été 2003. C'est l'année 2004-2005 qui n'a pas subi de variations majeures qui a été sélectionnée pour cette étude.

### 2-1- La fixation

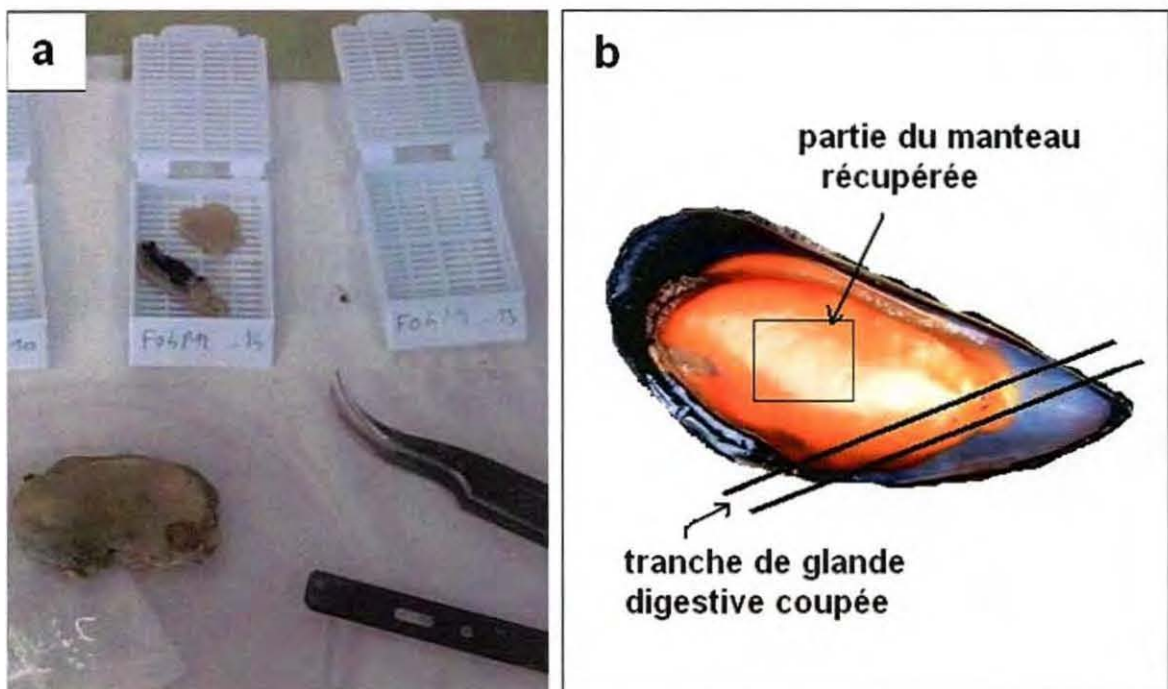
Lors du prélèvement, la chair de l'animal a été extraite de la coquille et a été fixée dans du Davidson. Pour leur conservation, les pots ont été entreposés dans une chambre froide.

**Composition du liquide Davidson :** Eau de mer → 30 %  
Formol 36 % → 20 %  
Ethanol 95 % → 30 %  
Glycérol → 10 %

## 2-4- Réalisation des coupes

### *2-4-1- Préparation des échantillons de moules pour l'histologie*

Pour chaque individu, une coupe de glande digestive et un morceau de manteau ont été prélevés. C'est dans le manteau de la moule que sont contenues les gonades. La glande digestive servira pour d'autres études (recherche d'éventuels parasites...). Les coupes de tissus ont été réalisées sous hotte aspirante avec des gants et à l'aide de pinces de dissection et de lames de rasoir comme le montre la figure 4. Les prélèvements sont ensuite mis en cassettes d'histologie.



**Figure 4. Coupe et mise en cassette des tissus de moules.**

**a :** les tissus de moule coupés sont placés dans une cassette (la glande digestive est le morceau de tissu noirâtre, le manteau la partie claire).

**b:** zones de découpe des échantillons.

Les cassettes sont identifiées par un code indiquant le site (F : filière, A: Aiguillon), l'année de suivi (04 pour le suivi 2004-2005), le code de prélèvement P0 à P12 indiquant les mois successifs de mars 2004 à mars 2005 ainsi qu'un numéro pour l'individu mis en cassette (1 à 30). La mise en cassette permet de disposer côte à côte deux parties différentes de l'animal. Les cassettes préparées sont ensuite conservées dans de l'alcool 70% (obtenu par dilution à partir d'alcool à 95%) en attendant l'étape suivante. La totalité des moules prélevées par site et par mois a été mise en cassettes mais, seules 15 moules sur les 30 prélevées seront traitées pour ce travail.

#### *2-4-3- Déshydratation et imprégnation des échantillons*

Cette étape est automatisée. Les cassettes contenant les tissus sont placées dans un automate à déshydratation (Inclusion Tissue-Tek VIP 1000) pendant plusieurs heures durant lesquelles les tissus seront déshydratés et imprégnés de paraffine (fig. 5). Dans l'automate, ils seront mis en contact successivement avec différentes solutions : éthanol 95%, éthanol absolu, xylène et paraffine (Tableau 1).

**Tableau 1. Temps de traitement dans l'automate**

<b>Produits</b>	<b>Temps de traitement (min)</b>
Ethanol 95%	30
Ethanol 95%	30
Ethanol absolu	15
Ethanol absolu	30
Ethanol absolu	60
Xylène	30
Xylène	60
Xylène	60
Paraffine	45
Paraffine	45
Paraffine	45
Paraffine	en attente

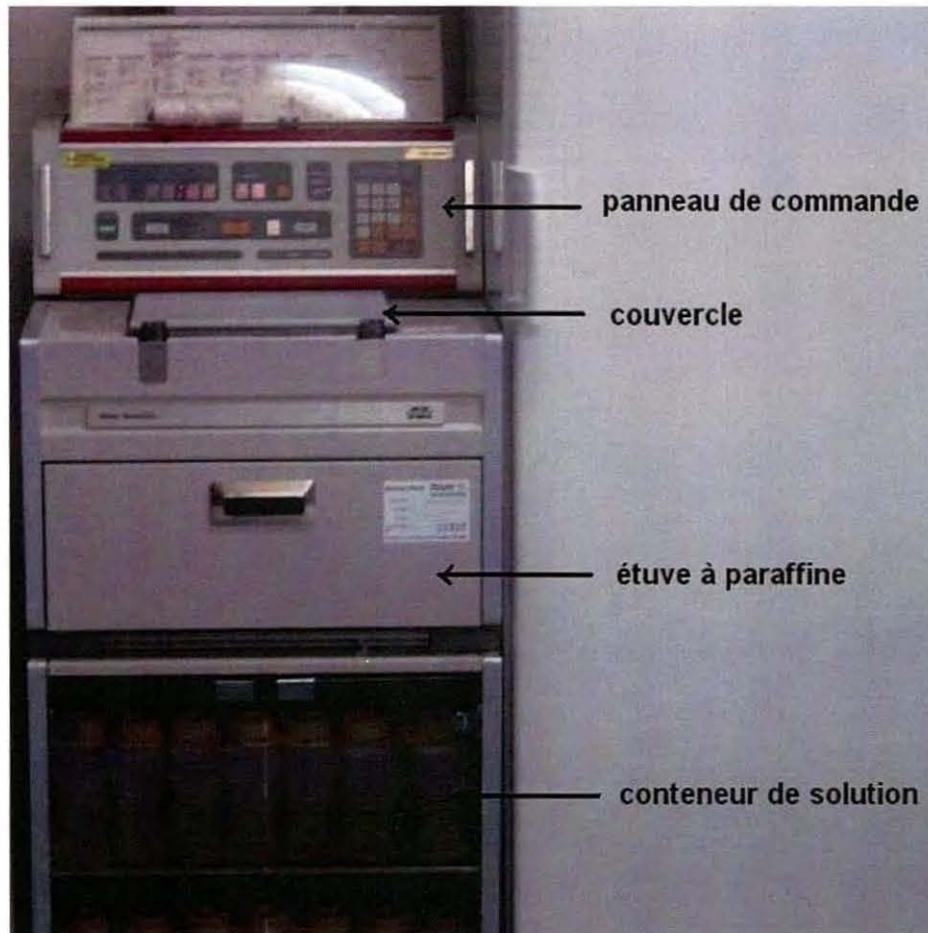
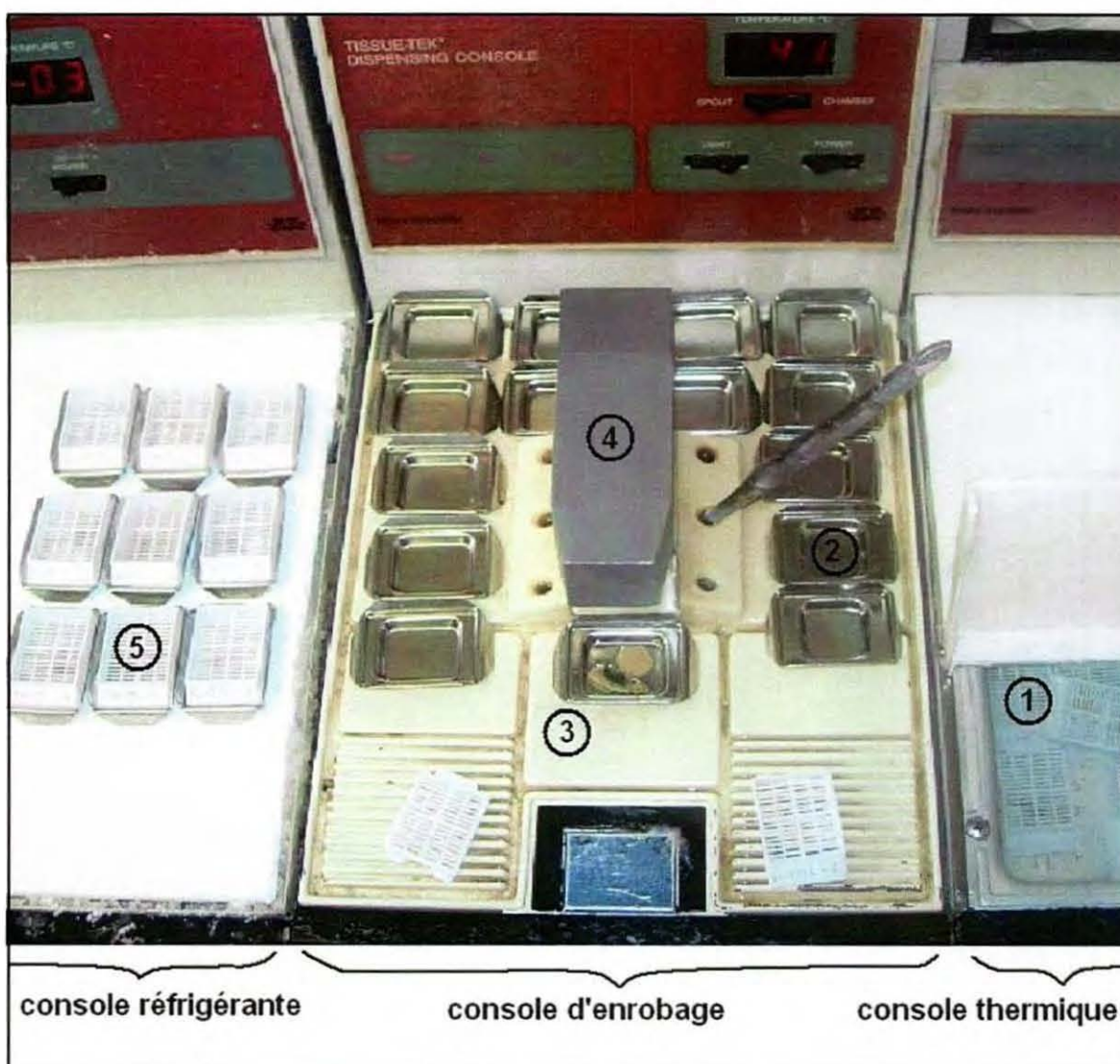


Figure 5. Automate à déshydratation.

#### 2-4-4- Inclusion des échantillons

A l'issue de l'imprégnation en paraffine, les échantillons sont inclus dans un bloc de paraffine. L'appareil utilisé est un banc à inclusion qui permet d'enrober en blocs de paraffine les tissus préalablement déshydratés et infiltrés par la paraffine liquide. Le banc à inclusion est composé de trois modules comme le montre la figure 6 :



**Figure 6. Banc à inclusion.**

- 1 : cassettes contenant les tissus gardés dans le bac à paraffine chaude.
- 2 : moules inox mis à préchauffer en attente d'être utilisés (différentes tailles sont disponibles).
- 3 : morceaux de tissus orientés convenablement dans le moule rempli de paraffine liquide.
- 4 : vanne distributrice de paraffine liquide.
- 5 : moules inox posés sur la plaque réfrigérante, la paraffine se solidifie.

Les cassettes contenant les tissus imprégnés sont placées dans le bac à paraffine thermostaté. Elles sont immergées dans la paraffine liquide en attendant d'être incluses. La préparation du bloc se fait sur la plate-forme chaude de la console d'enrobage (fig. 6). Après avoir ouvert la cassette les tissus sont orientés dans un moule en inox à l'aide d'une pince puis le moule est rempli de paraffine chaude. On recouvre ensuite le moule contenant les tissus immergés dans la paraffine liquide de la cassette (sans son couvercle) puis on place rapidement le tout sur la plaque réfrigérante pour refroidir la paraffine. Une fois la paraffine solidifiée, le moule est retiré et on obtient un bloc de paraffine emprisonnant les tissus (fig. 7). La cassette sert de support à la paraffine, le tout formant le bloc.



**Figure 7. Blocs de paraffine renfermant les morceaux de moules.**

On observe le manteau et la tranche de glande digestive, plus sombre, situés proche de la surface du bloc pour faciliter la coupe.

#### *2-4-5- Confection des coupes*

L'appareil permettant de réaliser des coupes histologiques de tissus inclus en paraffine est le microtome (fig. 8). Le bloc est placé dans le porte bloc. En tournant le volant du microtome, le bloc est coupé par la lame du microtome. Celle-ci doit être changée régulièrement pour conserver la qualité et la finesse des coupes.



**Figure 8. Le microtome permet de réaliser des coupes de différentes épaisseurs.**

La confection des coupes nécessite au préalable un dégrossissage du bloc qui consiste à enlever la couche superficielle de paraffine en coupant le bloc au microtome. Pour cette opération, l'épaisseur de la coupe a été réglée à 15  $\mu\text{m}$ . Le travail se poursuit jusqu'à ce que l'on voit les tissus affleurer à la surface du bloc. Une fois dégrossis, les blocs sont préalablement refroidis (sur la plaque réfrigérante du banc à inclusion) afin de faciliter la coupe.

Pour une observation idéale au microscope, nous avons choisi de faire des coupes de 3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. La réalisation des coupes est un travail délicat et minutieux qui nécessite un apprentissage. Une fois réalisé, le ruban de coupe de tissus inclus est saisi délicatement à l'aide d'une pince et d'une aiguille à dissection et placé à la surface de l'eau (environ 30°C) dans le bain-marie d'histologie (fig. 9).



**Figure 9. Bain marie d'histologie.** On peut voir sur le ruban les coupes des tissus et sélectionner la moins abîmée pour la mettre sur lame.

Le bain d'histologie permet de défroisser le ruban (fig. 9) et il est possible de sélectionner et récupérer une coupe pour la positionner sur une lame. Les lames contenant les coupes sont ensuite identifiées et mises à sécher à l'étuve à 55°C pendant une nuit.

#### *2-4-6- Coloration et montage des lames*

Les coupes ont été colorées à l'hémalun-éosine. Les lames histologiques séchées sont placées dans un portoir qui sera ensuite trempé dans une succession de bains comme le montre la figure suivante :



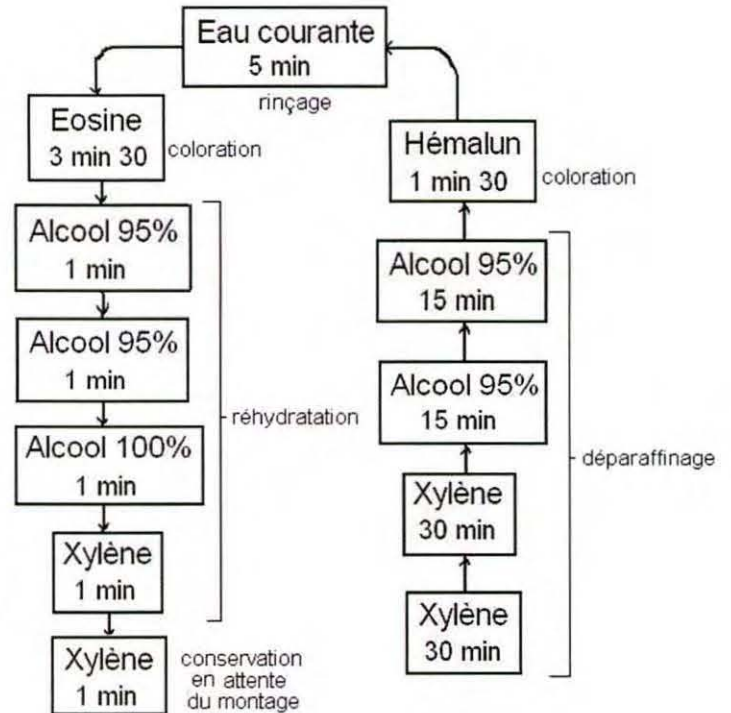


Figure 10. Bains de déparaffinage et de coloration. Schéma indiquant l'ordre et le temps de séjour des portoirs de lames dans chaque bain de solution.

Sous la hotte, les lamelles ont ensuite été posées sur les lames après avoir déposé une goutte de colle de montage de lame. Une fois les lames montées, elles sont laissées sous la hotte le temps de sécher. Les lames sont ensuite prêtes à être observées (fig. 11).



Figure 11. Lames identifiées et colorées à l'hémalun-éosine prêtes à l'observation au microscope.

## 2-5- Préparation des références pour la lecture au microscope

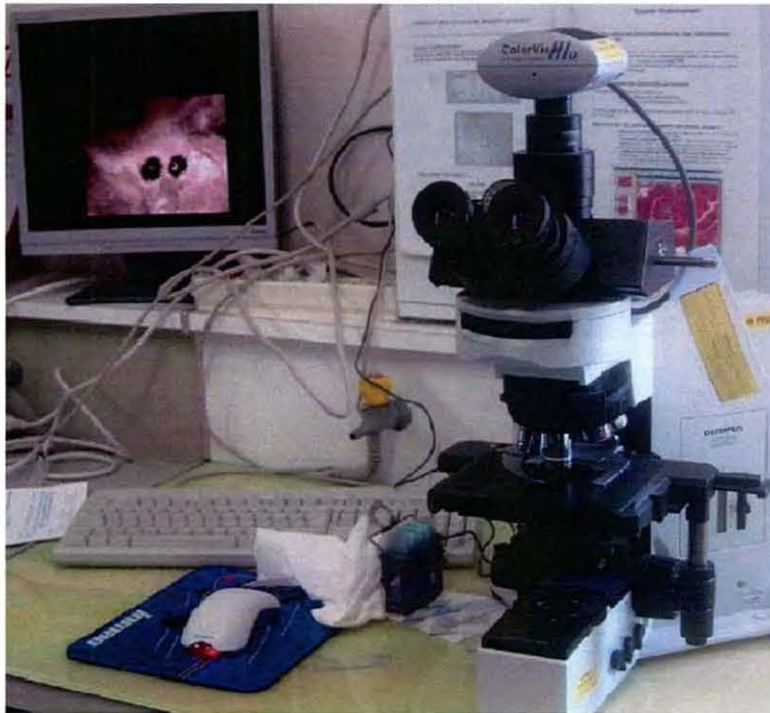
Pour se familiariser et apprendre à déterminer les différents stades de maturation des moules, un document a été élaboré à partir des études sur la description des stades gonadiques de Lubet (1959) sur *Mytilus edulis* Suarez (2005) sur *Mytilus galloprovincialis*. Le document est produit en annexe 1. Il est résumé dans le tableau 2 ci-dessous.

**Tableau 2. Descriptif des stades**

Stade	Observations
0	Pas de tissu gonadique, follicule vide
1	Beaucoup de gonies, sexe encore difficilement identifiable
2	Identification du sexe possible et présence de tous les types de cellules germinales
3 A1	Présence de tous les types de cellules germinales et diminution du tissu de réserve
3 A2	Présence de tous les types de cellules germinales et plus de tissu de réserve
3B	Prédominance des cellules matures
3C	Il reste des cellules matures et on observe une nouvelle génération de gonies
3D	Les follicules ne contiennent plus que des restes de gamètes matures

## 2-6- Lecture des lames

Les observations des gonades du manteau des 15 individus de chaque lot ont été faites au microscope optique en utilisant les objectifs x10, x20 et x40 (fig. 12). La première étape fut d'apprendre à reconnaître les différents stades. Les observations ont pu être comparées plus facilement aux références (annexe 1) grâce aux photos numériques réalisées avec le logiciel (annexe 2). De cette façon, une première interprétation a pu être réalisée sur nos coupes. Sur chaque lame observée, le sexe et le stade gonadique ont été enregistrés.



**Figure 12. Le microscope utilisé présente de nombreux choix de grossissements.**  
Il est relié à une caméra permettant de suivre l'image sur l'ordinateur ce qui fut très pratique pour apprendre à identifier les différents stades, notamment en prenant des photos.

### 3- Résultats

#### 3-1- Répartition des sexes

Sur les 390 moules observées sur les deux sites, les répartitions sont légèrement différentes d'un site à l'autre (Tabl. 3). Le sexe des individus en stade 0 et de la plupart des individus en stade 1 n'a pas pu être déterminé car les cellules germinales ne sont pas assez différenciées.

Les proportions totales de mâles et de femelles sont très proches (48 % de mâles et 52 % de femelles). Pour les individus de sexe déterminé, les proportions de femelles sont équivalentes sur les 2 sites (52%), et ne diffèrent que de 1% pour les mâles (48 % et 47 %). La différence entre les pourcentages de mâles et femelles sur chaque site (4-5 %) est faible et sûrement due à la quantité réduite de moules échantillonnées.

**Tableau 3. Nombre d'individus par sexe et par site.**

	Aiguillon	Filière	total
♂	66	78	144
♀	71	87	158
I	58	30	88
total	195	195	390

I : indéterminé

### 3-2- Evolution du stade de maturation par sexe

Le stade 0 est représenté par des individus de sexe indéterminé. Sur l'ensemble des individus observés, le stade 0 représente une proportion double sur l'Aiguillon (30 % des individus observés) par rapport aux filières (16 %). Pour chacun des deux sites, il n'y a pas de différence marquante entre le nombre de mâle et le nombre de femelle par mois sauf les mois de janvier sur l'Aiguillon et de juillet et août sur les filières (Fig. 13 et 14). De même, l'évolution des stades de maturation est proche pour la même période chez les deux sexes. Des traces de gamètes matures (spermatozoïdes) ont pu être observées en stade 1 dans quelques moules.

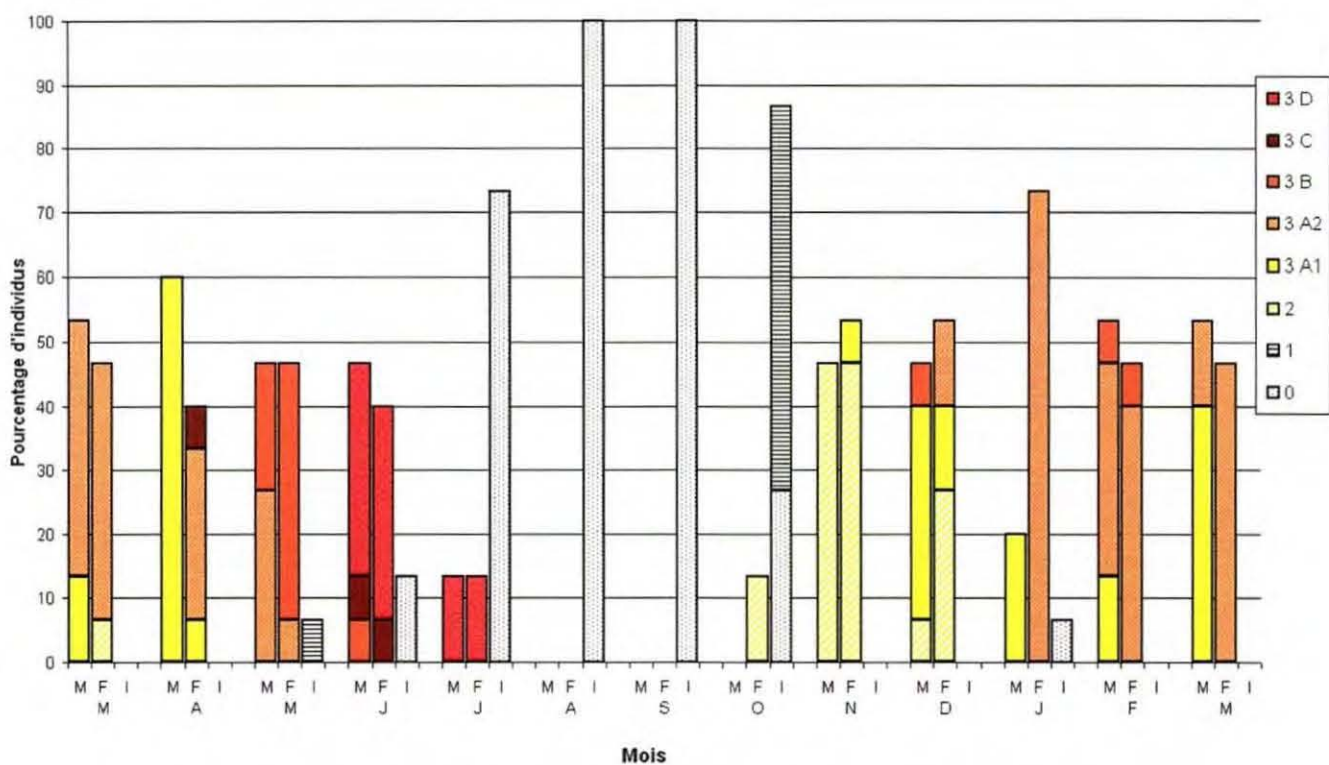


Figure 13. Evolution mensuelle des stades gonadiques en fonction du sexe (Aiguillon).

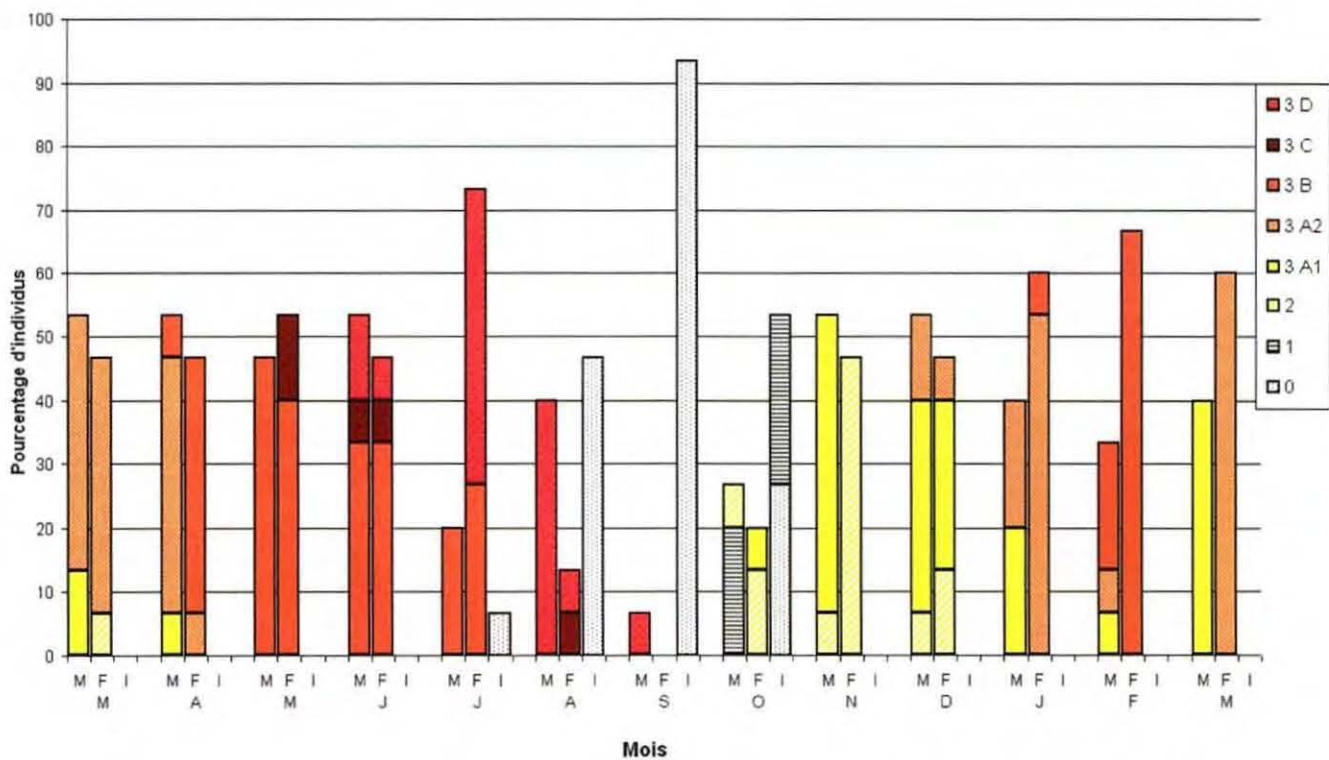


Figure 14. Evolution mensuelle des stades gonadiques en fonction du sexe (Filières).

### 3-3- Evolution des cycles gonadiques regroupés

Pour une plus grande clareté, l'ensemble des stades 3 a été regroupé en un seul stade. L'évolution temporelle des moules dans les différents stades de maturation au cours de l'année 2004-2005 sur les deux sites est illustrée par les figures 15 et 16. L'évolution de la gamétogénèse peut être clairement suivie tout au long de l'année.

Le stade 0, période de repos sexuel, est plus long sur le site de l'Aiguillon (il s'étend sur plus de 4 mois) que sur les filières (un peu plus de 3 mois). Sur les deux sites, il atteint un pic en début septembre. Le stade 0 commence plus tôt sur le site de l'Aiguillon (en juin) que dans les filières (juillet). Les stades 1 et 2 sont synchrones sur les deux sites. Le stade 1 est un stade relativement réduit (environ 50 % des individus observés ont atteint ce stade en même temps), il s'étend sur une courte période (2 mois). La différenciation des gonies est rapide.

Le stade 2 dure 3 mois. Durant cette période, une grande majorité des individus (93 %) de l'Aiguillon sont en stade 2 en novembre contre 53 % sur les filières d'octobre à décembre.

Le stade 3 est moins long chez les individus du site de l'Aiguillon que chez les individus des filières. Il s'étale entre novembre et début juillet de l'année suivante sur le site de l'Aiguillon. Dans le site des filières, on retrouve des individus en stade 3 tout au long de l'année mais en nombre très réduit entre les mois de septembre et d'octobre; ces individus sont en fin de stade 3 (stade 3D) en pleine restauration du tissu de réserve ou au début du stade 3 (stade 3A). La période de maturation est beaucoup plus longue chez les moules de filières.

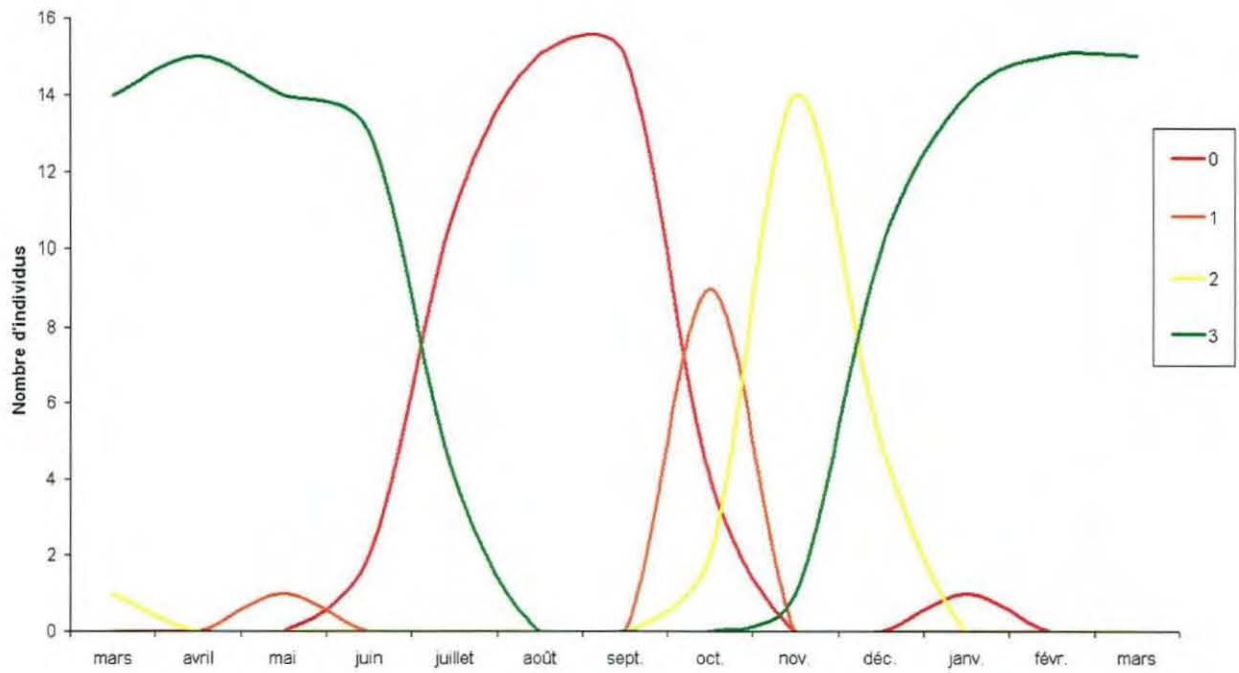


Figure 15. Cycle gonadique des moules du site de l'Aiguillon. Stades 3 regoupés.

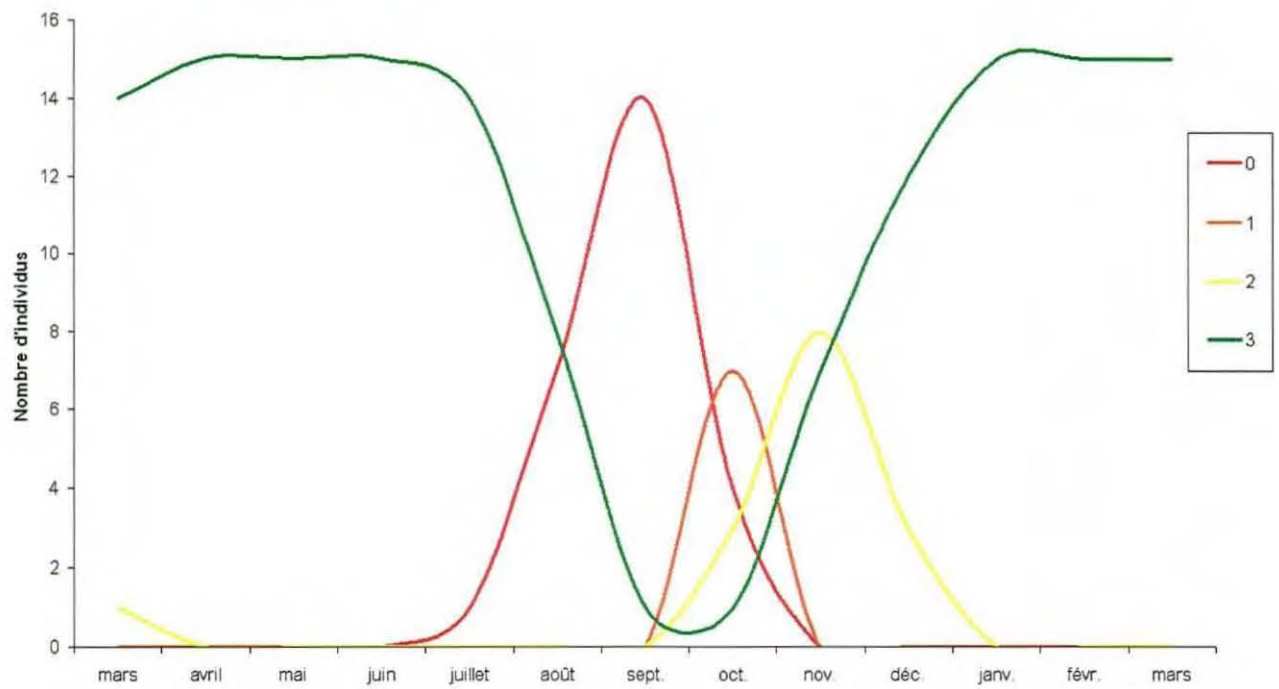


Figure 16. Cycle gonadique des moules du site des Filières. Stades 3 regoupés.



### 3-4- Evolution des cycles gonadiques détaillés

Les figures 17 et 18 regroupent les informations par période mensuelle indépendamment des sexes déterminés ou non. Il représente notamment les stades 3 dans leurs détails.

On remarque que les stades de maturation sont bien individualisés par une succession de pics aux différents stades plus lisibles sur le site de l'Aiguillon que sur les filières. Le stade 3 débute (stade 3A1) plus tôt dans les filières en octobre et seulement en novembre dans l'Aiguillon.

Les pontes ont lieu durant les stades 3B et 3C (le stade 3C est un stade de régénération rapide) juste avant la phase de restauration des tissus de réserve (stade 3D). D'après les figures 17 et 18, deux périodes de ponte peuvent être identifiées. La période de ponte principale a lieu fin mai-début juin sur les deux sites. Les individus ont des gamètes mûres (stade 3B) plus tôt sur les filières que les individus du site de l'Aiguillon. Durant cette période, les moules (stades 3B et 3C) sont beaucoup plus nombreuses dans les filières et on peut penser que l'émission de gamète y est plus intense.

En complément de cette observation, l'évolution des stades de maturation indique un brusque changement entre janvier et février sur filières où l'on passe d'un stade 3B à un stade 3A ce qui semble souligner une deuxième période de ponte en hiver (moins importante). On retrouve également cet événement à l'Aiguillon mais de façon moins marquée.

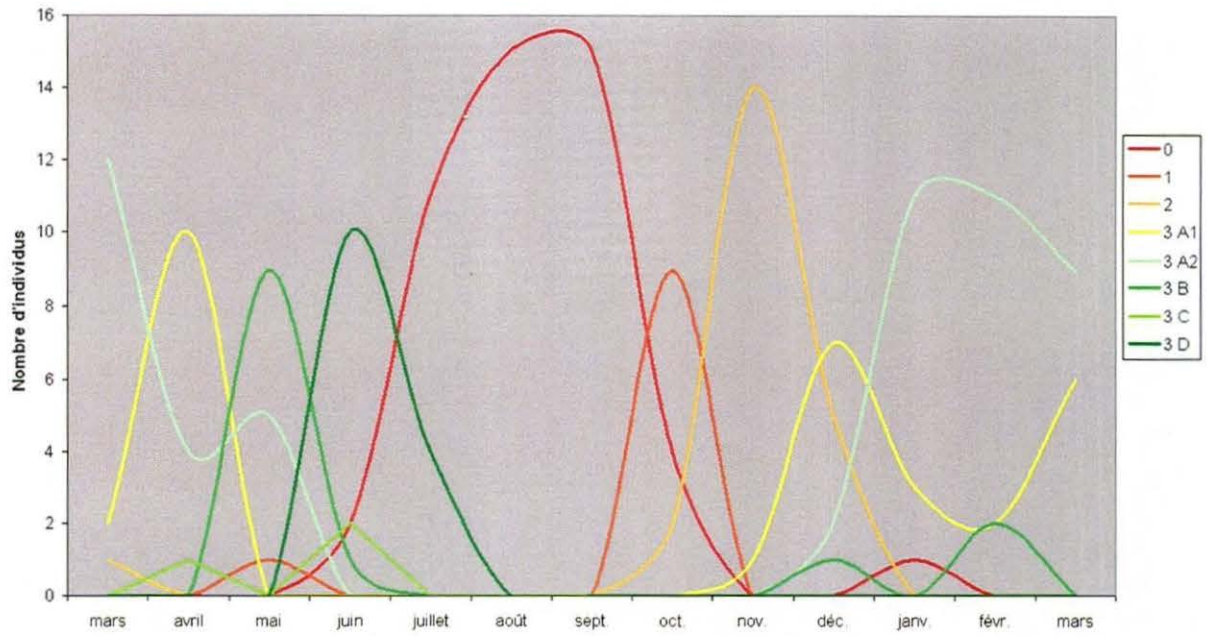


Figure 17. Cycle gonadique des moules du site de l'Aiguillon.

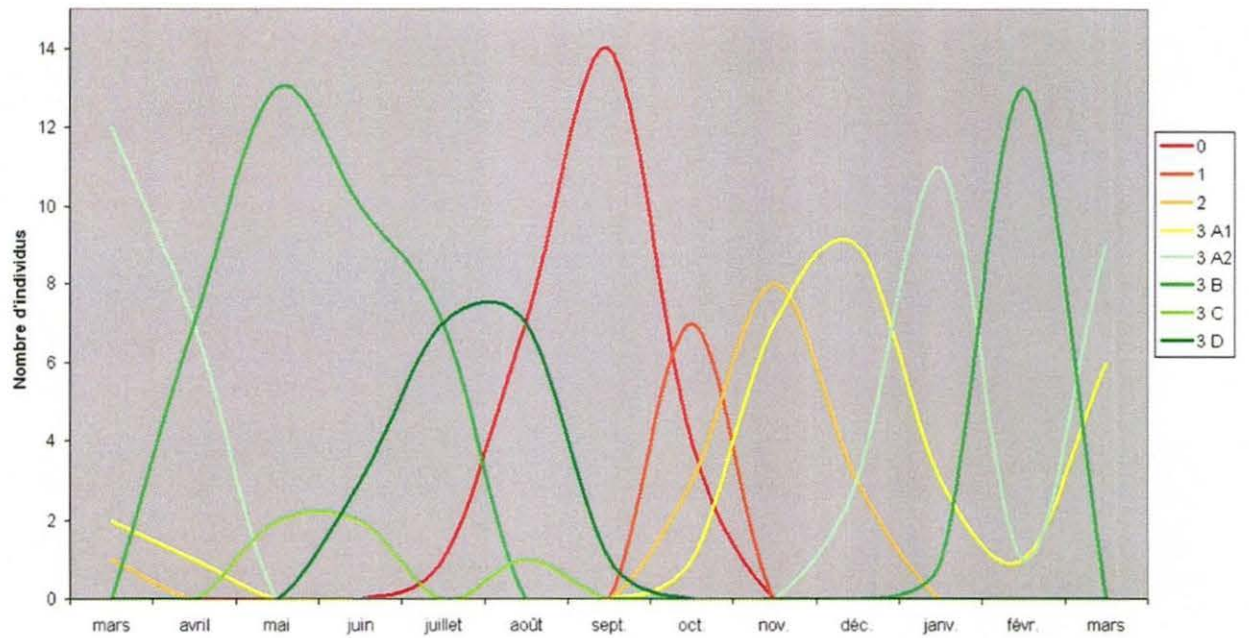


Figure 18. Cycle gonadique des moules du site des Filières .

### 3-5- Composition en glycogène en 2004-2005

Dans un travail réalisé dans le cadre du réseau REMOULA, la concentration mensuelle en glycogène sur le site des Filières et le site de l'Aiguillon a été mesurée pendant le cycle 2004-2005 et servira dans notre travail. Il est intéressant de regarder l'évolution des composés biochimiques dans le corps des moules comme le glycogène qui reflète les mécanismes de régulation métabolique en relation avec avec le cycle sexuel (Fig. 19).

Alors qu'au début de nos observations le taux de glycogène reste bas (<4 %) sur l'Aiguillon et sur les filières, il augmente respectivement en juin (Aiguillon) et juillet (Filières) en total correspondance avec la chute du stade 3. Par la suite, le niveau de glycogène se maintient à un niveau élevé sur les deux sites (>14 %) avant la période de repos de la maturation du stade 3 à partir de novembre sur l'Aiguillon et dès octobre sur les filières. Les différences d'évolution sur les deux sites soulignent bien que la forte diminution de glycogène est liée au début du stade 3. En effet, alors que le stade 2 de l'Aiguillon est identifié à 93 % en novembre, le glycogène reste enore très élevé sur ce pic, alors qu'il chute déjà (<12 %) pour la même période sur les filières où la reprise du stade 3 représente 50 % des individus.

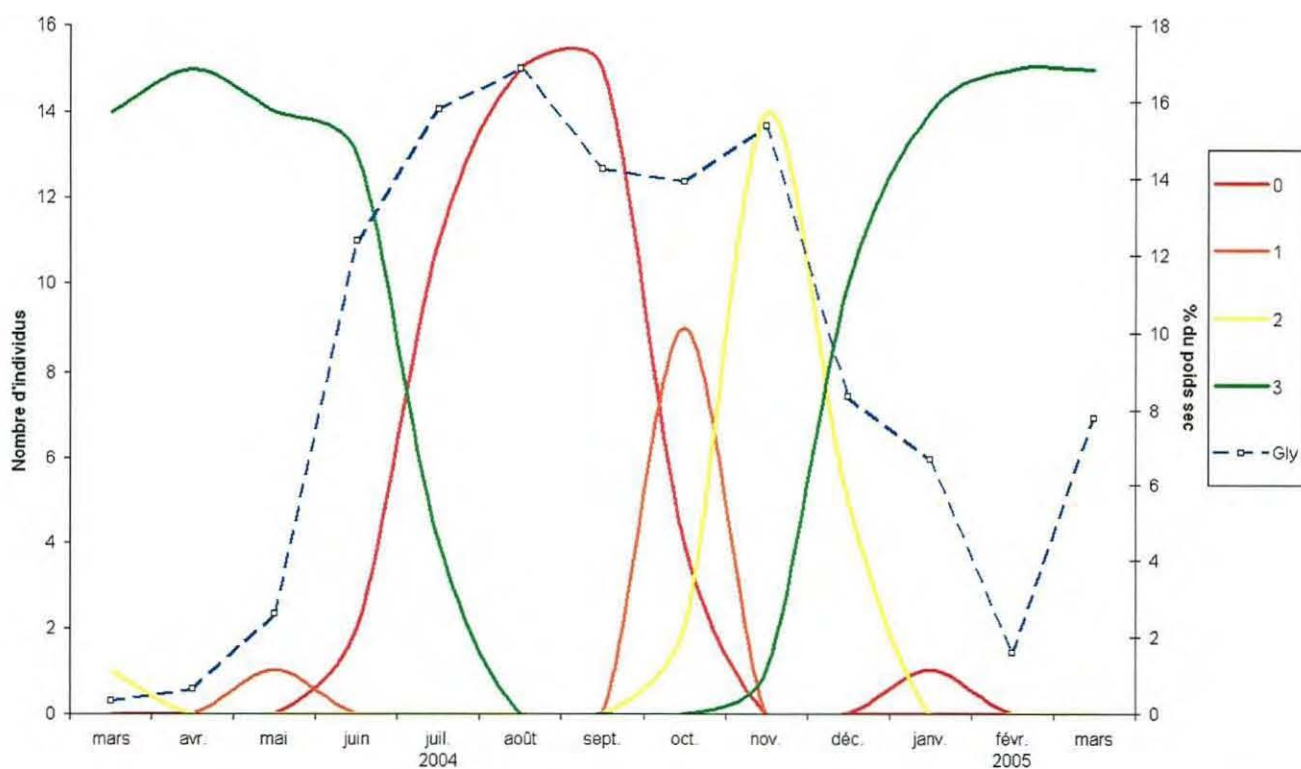


Figure 19. Evolution du pourcentage (poids sec) de glycogène au cours de l'année 2004-2005 sur le site de l'Aiguillon.

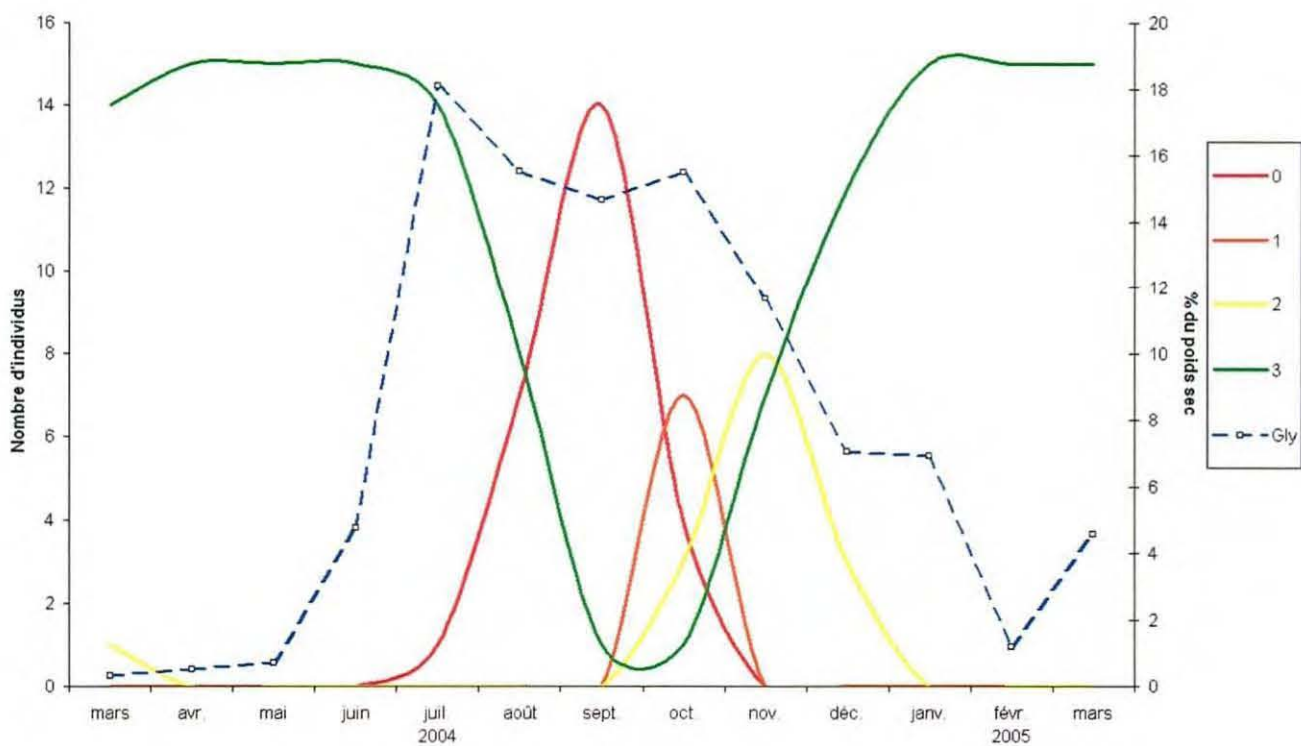


Figure 20. Evolution du pourcentage (poids sec) de glycogène au cours de l'année 2004-2005 sur le site Filières.

#### 4- Discussion

Notre travail a pu être réalisé essentiellement à partir de supports établis à l'aide des références des travaux de Lubet sur la moule *Mytilus edulis* (1959), complétés par les références des travaux de Suarez sur *Mytilus galloprovincialis* (2005).

En ce qui concerne la répartition des sexes, nous n'avons pas constaté de différences marquantes entre mâles et femelles au niveau du nombre ou des stades mensuels. La répartition mâles (45 %) et femelles (55 %) des lames observées est en concordance avec les résultats obtenus par Suarez sur *Mytilus galloprovincialis* sur un plus grand nombre (30) d'individus observés.

Le positionnement des deux sites d'élevage est important dans la comparaison avec les travaux précédents. Selon Robert (2000), le choix des sites d'élevage correspond à des environnements différents. Les filières situées au milieu du pertuis Breton sont sous influence océanique. Les moules y sont en constante immersion et peuvent filtrer en continu. Les bouchots de l'Aiguillon sont sous influence estuarienne de la Sèvre Niortaise et les moules sont soumises au jeu des marées. Cette situation est validée par Richard (2000) sur l'estimation des contributions des diverses sources de nourriture des mollusques du pertuis Breton. Les sources de nourriture sont différentes. Les moules de filières se nourrissent essentiellement de phytobenthos, tandis que les moules de bouchots ont aussi une part importante de nourriture d'origine terrigène et de benthos.

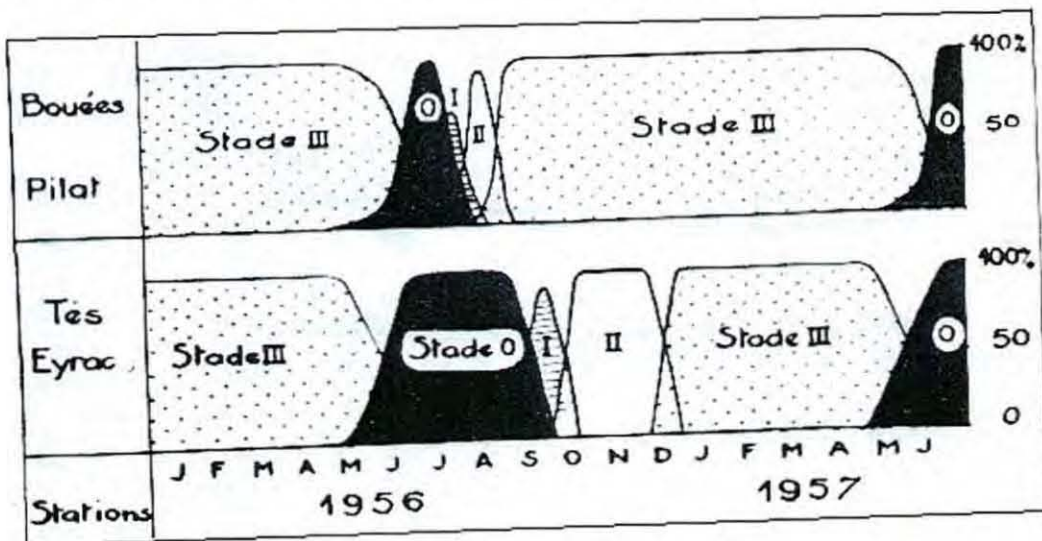


Figure 21. Séquences comparées du cycle sexuel de *Mytilus edulis* sur le site des Bouées (comparable aux filières) et le site de Tès Eyraç (bouchots) de Lubet. Les taux exprimés indiquent le pourcentage des différents stades présents, pour chaque station, pour une même date d'examen.

Les positionnements de nos sites d'observation peuvent être comparés à deux des sites d'étude de Lubet.

Le site filières est un site comparable au site des Bouées du Pilat où les moules sont élevées en haute mer. Le site de l'Aiguillon est un site où les moules sont élevées dans des conditions comparables aux bouchots de Tès Eyrac. Les graphiques établis par Lubet (Fig. 21) peuvent être comparés à nos graphiques. Il y a une bonne similitude dans l'évolution des stades et des conditions environnementales sur les deux positions géographiques du pertuis Breton et du bassin d'Arcachon. L'Aiguillon suit l'évolution de Tès et les filières celles des Bouées du Pilat.

En ce qui concerne le stade 0, les observations sont identiques à celles de Lubet. Pour les stades 1 et 2, Lubet affirme qu'en général, la durée des stades 1 et 2 pour les moules soumises à l'action des marées est plus longue ce qui correspond à nos résultats. Les moules des filières ont, comme Tès, un stade 3 plus long, la maturation a lieu sur une période plus longue sur l'année. Les stades de croissance des follicules et acini (stades 0, 1, 2 et 3A1) sont plus courts. Ceci est probablement dû à une quantité de nutriments filtrés plus importante dans les filières. L'émission de gamètes est certainement plus importante dans les filières.

La période qui suit la ponte est une période de repos durant laquelle la moule doit refaire ses réserves énergétiques. Par comparaison, un lien fort a été observé entre l'évolution des stades et l'évolution du glycogène dans la chair des moules au cours de l'année 2004-2005. Les variations par rapport aux stades de maturation sont également semblables à celles décrites par Lubet. De même, les deux maxima de concentration du glycogène que nous avons observés l'ont aussi été par Lubet au début des stades 0 et 2.

L'augmentation du taux de glycogène a lieu plus tôt sur les bouchots et la période de fort taux de glycogène correspond à la période de pêche et de vente des moules sur bouchots. La qualité gustative des moules de bouchots est meilleure que celle des filières dont la période de pêche a lieu juste avant l'augmentation du taux de glycogène.

## 5- Conclusion

Les filières d'élevage présentent les meilleurs résultats en ce qui concerne la maturation. La période de maturation des moules est plus longue sur les filières et les émissions de gamètes semblent plus importantes. Les observations réalisées sur les deux sites d'élevage estuarien et océanique sur estran et en pleine mer sont en concordance avec les résultats de Lubet sur Arcachon en 1959.

Cette étude permet de compléter les travaux réalisés la même année dans le cadre du réseau REMOULA. Ce travail nous a permis de suivre l'évolution de la maturation de la moule *Mytilus edulis* dans le pertuis Breton en 2004-2005 et pourra servir de référence pour poursuivre d'autres études afin de suivre cette maturation sur les autres années référencées.

## 6- Bibliographie

1. IFREMER LE TREMBLADE. Station Ifremer de la Tremblade [en ligne].  
Disponible sur : <http://www.ifremer.fr/latremblade/> (consulté le 13.05.2006).
2. IFREMER. LER des pertuis charentais [en ligne].  
Disponible sur : [http://www.ifremer.fr/lerpc/moyens\\_ouils/modelisation/modelisation.htm](http://www.ifremer.fr/lerpc/moyens_ouils/modelisation/modelisation.htm)  
(consulté le 24.05.2006).
3. GOUVERNEMENT DU NOUVEAU-BRUNSWICK. Guide publication G005 [en ligne].  
Disponible sur : [http://www.gnb.ca/0168/guide\\_larvaire.pdf](http://www.gnb.ca/0168/guide_larvaire.pdf) (consulté le 25.05.2006).
4. LA FAUTE SUR MER. Activités maritimes [en ligne].  
Disponible sur : [http://www.fautaweb.com/rubrique.php3?id\\_rubrique=1](http://www.fautaweb.com/rubrique.php3?id_rubrique=1) (consulté le 16.05.2006).
5. Lubet Pierre. *Recherches sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilides et les Pectinides*. 1959, Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 23 (4), p.390-548.
6. PREFECTURE DE LA CHARENTE-MARITIME. La conchyliculture [en ligne].  
Disponible sur :  
<http://www.charente-maritime.pref.gouv.fr/charentem/economie/culture.htm> (consulté le 13.05.2006).
7. Richard P. Etude des potentialités conchylicoles du pertuis Breton. Houmeau : CREMA, 2000. 40 p.
8. Robert S. *et al.* REMOULA 2000, réseau de croissance Moule des pertuis charentais mars 2000-mars 2001. La Tremblade : Ifremer, 2001. 37 p.
9. Robert S. *et al.* REMOULA 2001, réseau de croissance Moule des pertuis charentais mars 2001-mars 2002. La Tremblade : Ifremer, 2003. 36 p.
10. Suarez M.P. *et al.* *Particular aspects of gonadal cycle and seasonal distribution of gametogenic stages of Mytilus galloprovincialis cultured in the estuary of vigo*. Journal of Shellfish Research, 2005, vol. 24, n°531-540, p.531-540.



# Annexe 1

## Evolution des stades de maturation selon Lubet (1959) sur *Mytilus edulis* et Suarez (2005) sur *Mytilus galloprovincialis*

### Stade 0

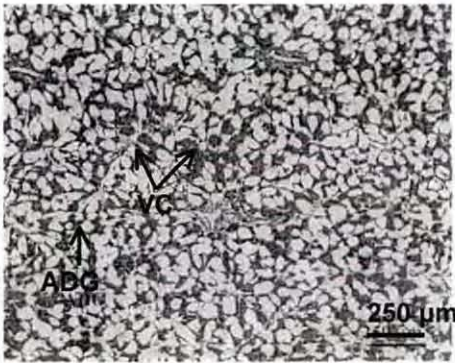
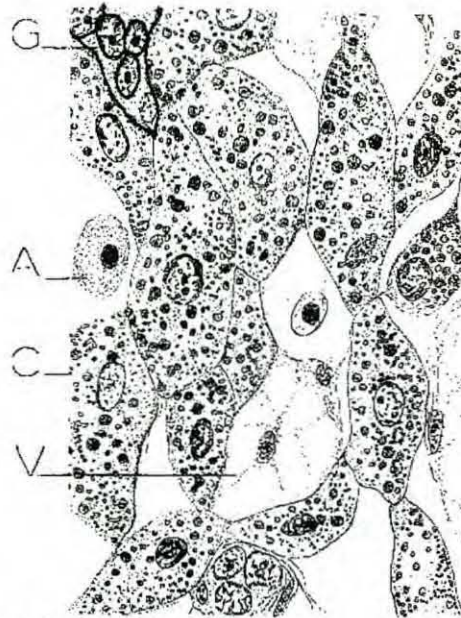


photo Suarez, 2005



schéma, Lubet, 1959

### + Description de Lubet (1959): Période de repos sexuel

Fin mai - début juin --> fin août - début septembre.  
Phase de restauration, stockage de nombreuses réserves.  
Période la plus chaude (19 à 24° C).

### Observations :

Follicule vide.  
Accroissement du tissu conjonctif.  
Quelques gonies (cellules mères), spermatogonies ou ovogonies le long des parois folliculaires.  
On observe également des ovogonies (provenant des spermatogonies et ovogonies), tassées à l'intérieur des acini gonadiques.

### + Description de Suarez (2005):

Caractérisé par une rapide régénération des tissus de réserve.  
Absence de tissu gonadique.

**Stade 1**

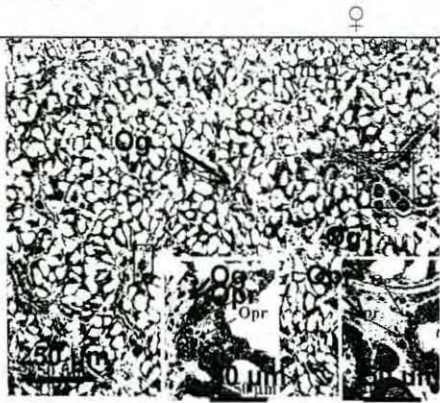
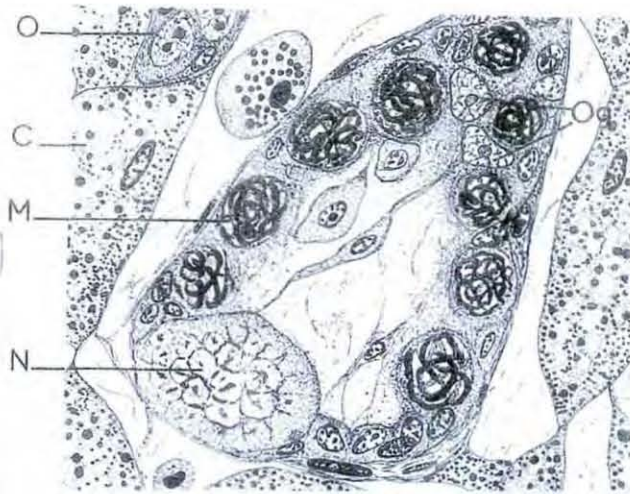


photo Suarez, 2005

Prolifération d'ovogonies, fin des follicules terminaux



schéma, Lubet, 1959

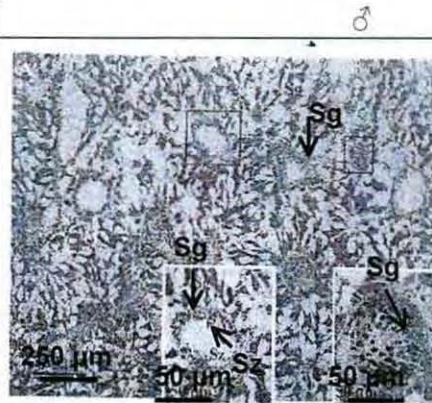
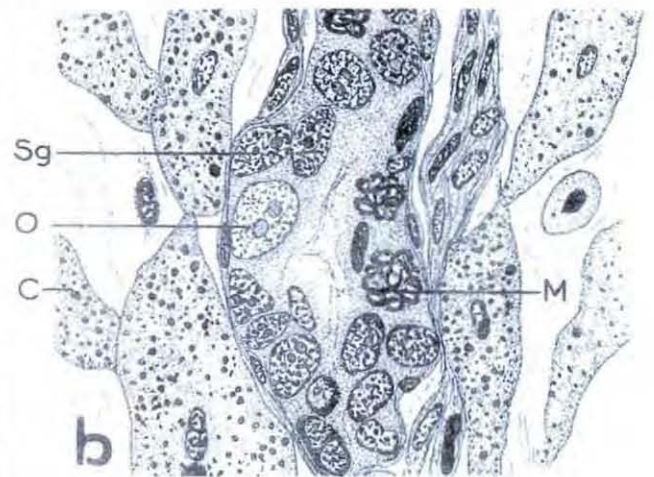


photo Suarez, 2005

Prolifération des spermatogonies qui vont recouvrir la paroi du follicule résiduel

Spermatogonies formant un nouveau follicule



schéma, Lubet, 1959

**+ Suarez :**

Stade de prolifération des gonies mâles et femelles dans les follicules.  
La prolifération des gonies est limitée à l'extrémité du follicule à partir d'où ils migrent à la périphérie.  
Il y a plus de gonies dans les mâles que dans les femelles.

**+ Lubet :** Multiplication des gonies

Début du cycle sexuel primaire.  
Phase de l'évolution génitale où dominent les ovogonies ou les spermatogonies.  
Phase de multiplication des gonies.

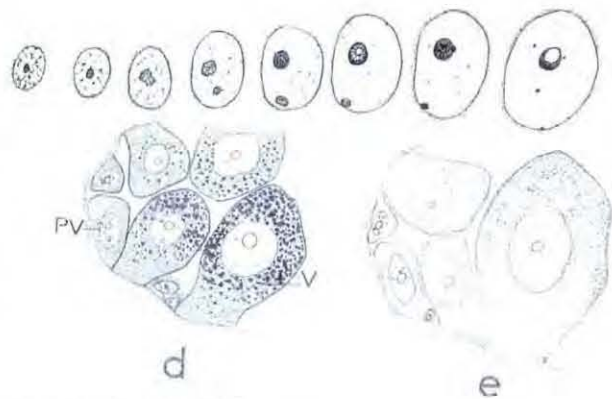
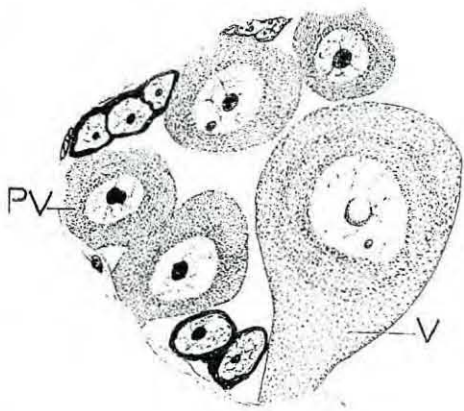
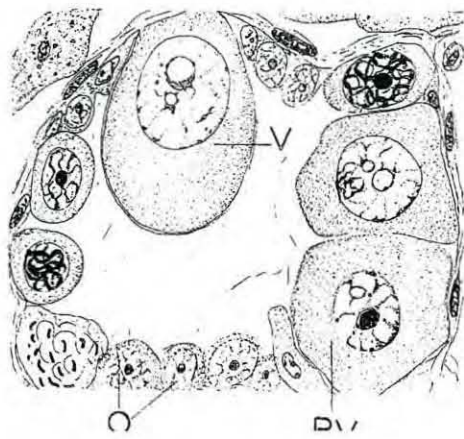
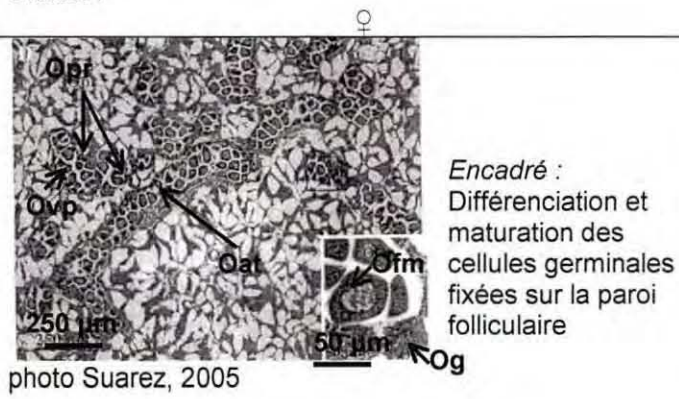
Observations :

Manteau envahi par de nombreux follicules (multiplication des gonies).  
Extrémités des follicules bourrées de cellules en mitoses (zone d'accroissement).  
Gonies le long des parois des follicules et aussi spermatogonies ou ovogonies (le plus souvent en cours de mitoses) et formation syncytiales (masse de cytoplasme comprenant plusieurs noyaux, formée de la fusion de plusieurs cellules).  
Tassement des éléments germinaux.  
On peut distinguer spermatogonies et ovogonies (un seul nucléole, chromatine moins dense).

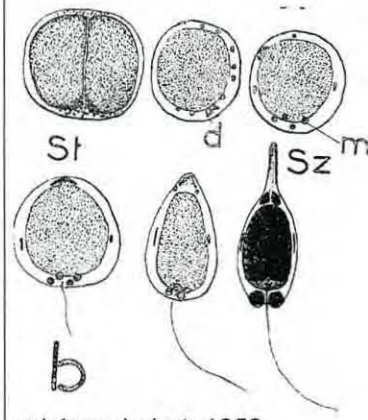
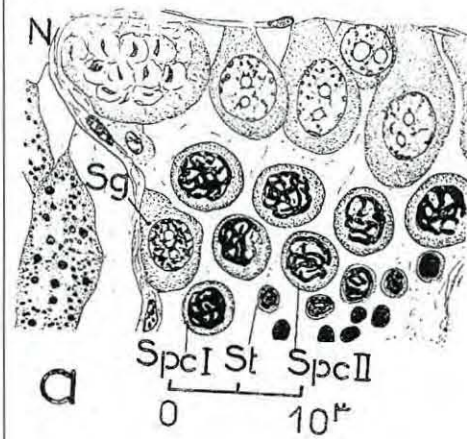
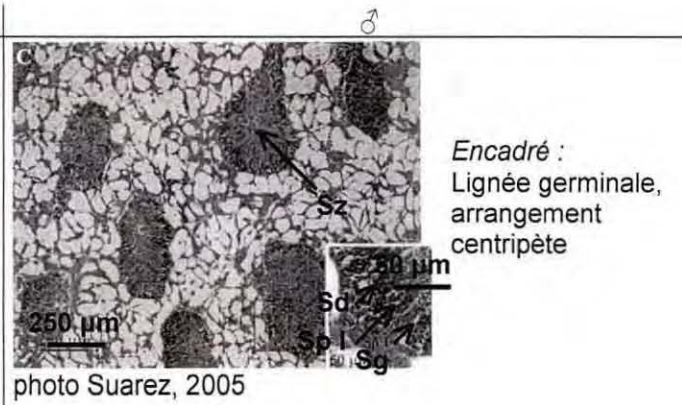
Dispersion de la chromatine du nucléole.  
Croissance forte des follicules.  
Quelques cellules mères, ovogonies dans partie terminale des follicules.

Accroissement puis division du nucléole de la spermatogonie.  
On peut distinguer spermatogonies et ovogonies (un seul nucléole, chromatine moins dense).

Stade 2



schéma, Lubet, 1959



schéma, Lubet, 1959

**+ Suarez :**

Différenciation et méiose de gonies.

Commence en août et continue en octobre et novembre (85% de mâles et 34% de femelles dans ce stade).

Les follicules sont petits.

♀

De petits groupes d'ovogonies, ovocytes dans différentes phases de maturation se présentent sur la paroi du follicule.

♂

Positionnement centripète des spermatogonies, spermatocytes et spermatozoïdes.  
Les spermatozoïdes sont organisés en ligne et le flagelle dirigé vers la lumière du follicule.  
Difficile d'observer des spermatozoïdes II.

**+ Lubet : Ovogenèse et spermatogenèse**

♀

Augmentation du volume des ovocytes qui peuvent être divisés en 2 étapes : la périvitellogenèse et la vitellogenèse.

Périvitellogenèse :

Cytoplasme riche en mitochondrie.

Appareil de Golgi représenté par quelques grains noirs.

Augmentation du diamètre du noyau ( $\approx 12\mu$ ) et divisions quelquefois.

Nombreux ovocytes renferment deux nucléoles.

Vitellogenèse :

Accumulation de plaquettes vitellines dans cytoplasme.

Mitochondries nombreuses et Golgi aussi.

Les ovocytes changent de forme, deviennent éclipiques et font saillie dans la lumière du follicule.

Les ovocytes ont obstrué la lumière du follicule.

♂

Spermatogenèse :

Les spermatogonies forment dans les acini gonadiques 1 à 2 assises périphériques et on peut voir tous les stades de la méiose.

Spermatocytes I  $\rightarrow$  forte activité enzymatique.

Spermatocytes II  $\rightarrow$  cytoplasme peu abondant grains golgien très apparent.

Spermiogenèse :

Spermatide  $\rightarrow$  peu de cytoplasme.

Transformation de la spermatide en spermatozoïde.

Certains spermatozoïdes sont fonctionnels (flagelles).

**Stade 3 A**

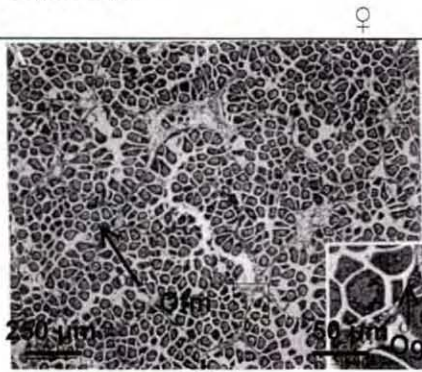


photo Suarez, 2005

Encadré :  
Groupe d'ovogonies  
en attente d'une  
transformation

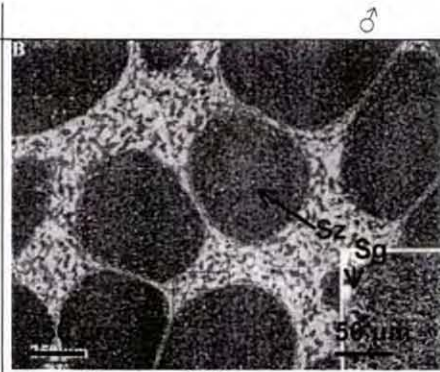


photo Suarez, 2005

Encadré :  
Groupe de  
spermatogonies en  
attente d'une  
transformation en  
spermatozoïdes

**+ Suarez :**

Stade de maturation atteint entre novembre et décembre, juste avant la première émission des gamètes.  
Le nombre et le volume des follicules augmentent.  
Les follicules des gonades occupent tout le manteau.

♀	♂
Matures, plus de tissus de réserve.	Encore relativement petits et encore beaucoup de tissus de réserve.

Juste après la gamétogenèse, la multiplication des follicules se fait de plus en plus rapidement et de façon plus intense et est accompagnée par de nombreuses mitoses de gonades qui marquent la "restauration des gonades".

Le nombre plus important de mâles que de femelles à ce stage de novembre à décembre peut indiquer un ralentissement de la spermatogenèse durant l'hiver.

**+ Lubet :** Période de reproduction

Proximité ou acquisition de la maturité sexuelle.

→ **Stade 3 A1 :**

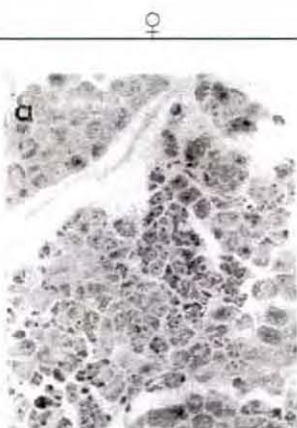


photo Suarez, 2005

Ovocytes en fin de croissance.  
Ovocytes aussi parfois en cours de vitellogenèse (cellules tassées).  
Vésicules germinatives très apparentes.

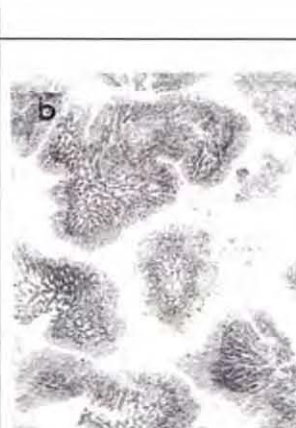
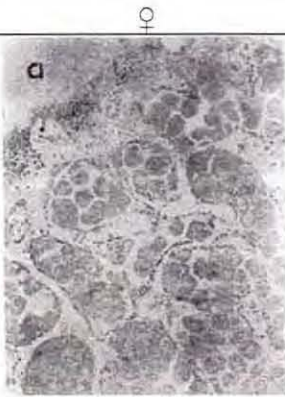


photo Suarez, 2005

Nombreux spermatozoïdes mûrs dans le follicule.  
Acini gonadiques contiennent encore une forte proportion de spermatides, spermatocytes I et II et spermatogonies.

→ Stade 3 A2 :

Les gonades des animaux renferment plus que des gonades susceptibles d'être émises.



photo, Lubet, 1959

Contours des ovocytes deviennent plus réguliers.  
Contours de la vésicule germinative se plissent.



photo, Lubet, 1959

Les follicules de la gonade ne renferment plus que quelques amas de gonies et une assise périphérique de spermatogonies.  
Lumière du follicule pleine de spermatozoïdes fonctionnels

**Stade 3 B (hivers) (Spécifique *M. galloprovincialis*)**

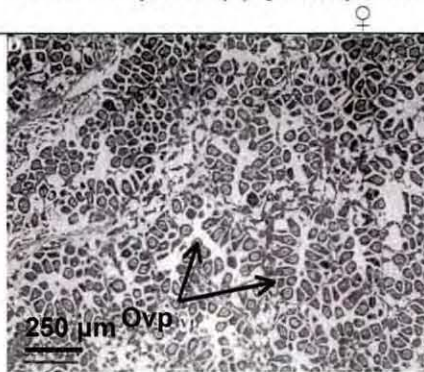


photo Suarez, 2005

Stade de ponte hivernale

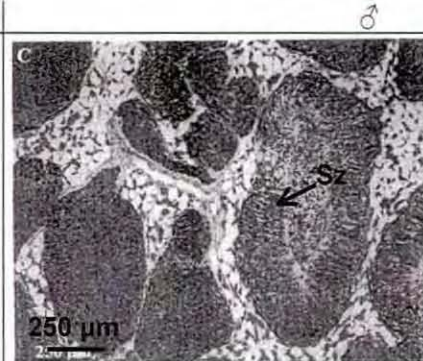


photo Suarez, 2005

Stade de ponte hivernale

+ Suarez :

Première émission de gamètes (stade III B) commence à la fin de l'automne.  
Présence de spermatozoïdes et d'ovocytes matures dans le gonoduct.

♀

Prédominance d'ovocytes vitellogéniques pédonculés chez les femelles.

♂

Perte de disposition radiale des spermatozoïdes.  
Augmentation de la lumière du follicule.

Cette ponte d'automne-hivers est caractérisée par une grande quantité de tissus de réserve.

**Stade 3 B (printemps)**

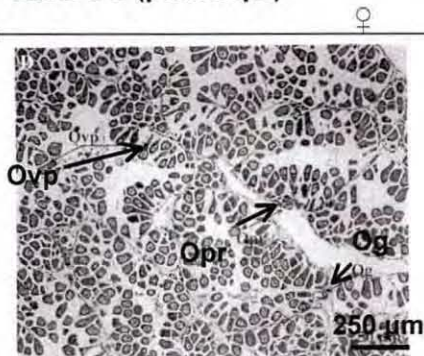


photo Suarez, 2005

Stade ponte au printemps

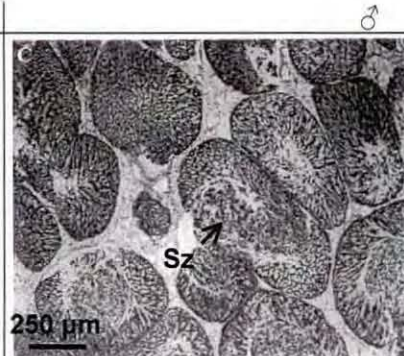
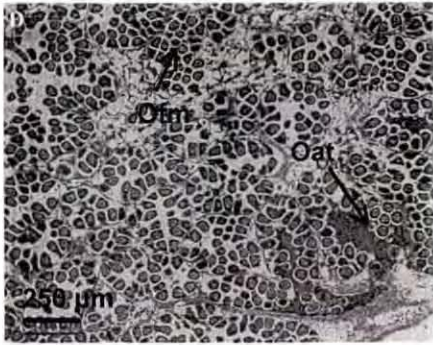


photo Suarez, 2005

Stade ponte au printemps

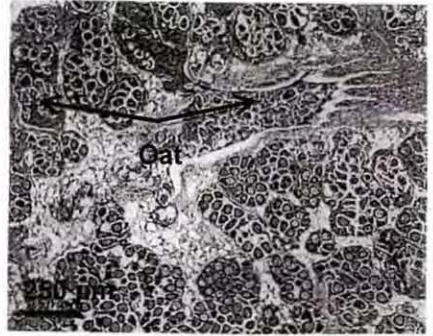
Stade 3 B (final)

♀



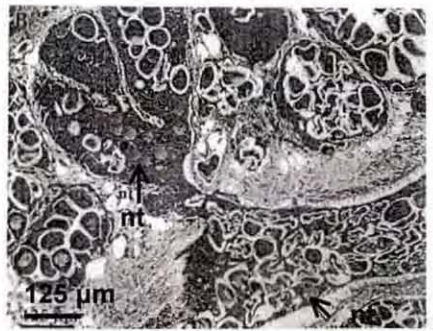
Fin du cycle de ponte

photo Suarez, 2005



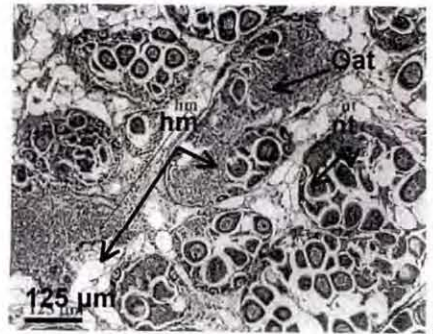
Atrésie et dégradation des ovocytes

photo Suarez, 2005



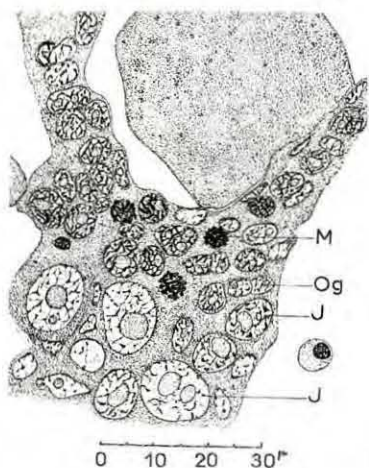
Lyse des structures cytoplasmiques et de la membrane ovocytaire

photo Suarez, 2005



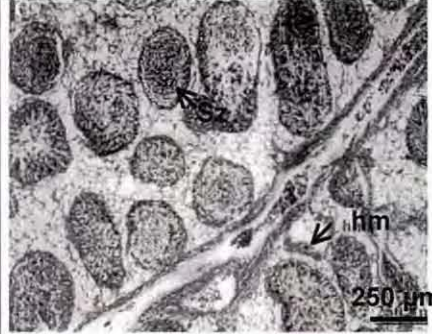
Masses d'hémocytes avec fonction phagocytaires

photo Suarez, 2005



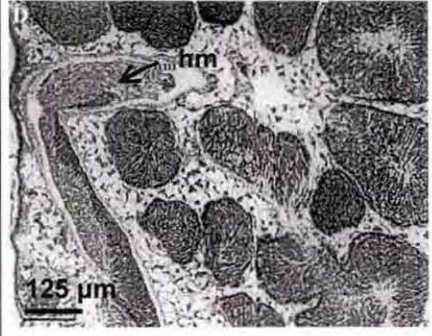
schéma, Lubet, 1959

♂



Fin du cycle de ponte

photo Suarez, 2005



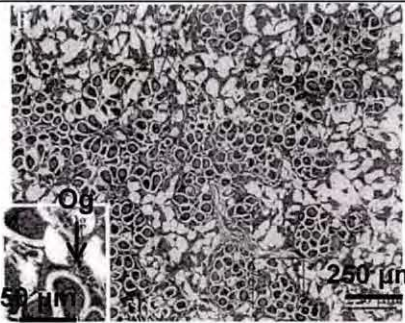
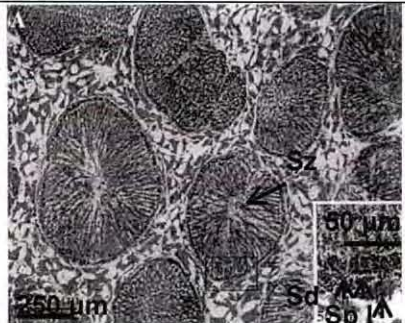
Masses d'hémocytes avec fonction phagocytaires

photo Suarez, 2005

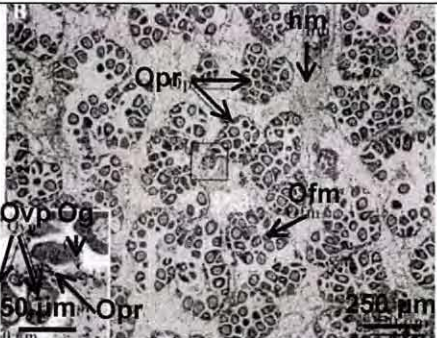
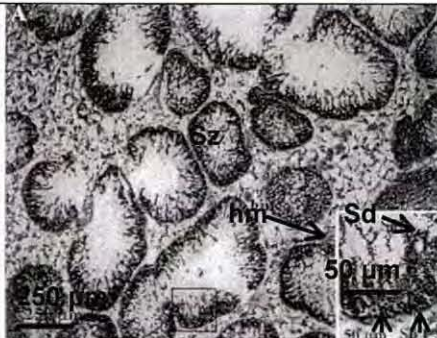
**+ Lubet :**

♀	♂
Un certain nombre d'ovocytes de petite taille ne sont pas émis (on peut observer des gonies).	Ils subsistent le long de la paroi des follicules des spermatogonies.

**Stade 3 C (hivers) (Spécifique *M. galloprovincialis*)**

♀	♂
 <p>photo Suarez, 2005</p> <p><i>Encadré :</i> Mitose, différenciation et maturation des ovocytes</p>	 <p>photo Suarez, 2005</p> <p><i>Encadré :</i> Gonies en mitose et nouvelle lignée des cellules germinales</p>

**Stade 3 C (printemps)**

♀	♂
 <p>photo Suarez, 2005</p> <p>Stade printemps</p> <p><i>Encadré :</i> Mitoses goniales, différenciation et maturation des ovocytes</p>	 <p>photo Suarez, 2005</p> <p>Restauration printanière des gonades</p> <p><i>Encadré :</i> Mitoses goniales et nouvelles lignées cellulaires</p>

**+ Suarez :**

Stade de restauration des cellules germinales (après la ponte).  
 Nombreuses mitoses des gonades et nombreuses formations de gamètes qui sont évacués par le gonoduct.  
 Gamétogenèse continue jusqu'au printemps.  
 Augmentation du nombre et de la taille des follicules.  
 Mi-mars, a lieu la première ponte de printemps.  
 Expulsion de la totalité des gamètes.

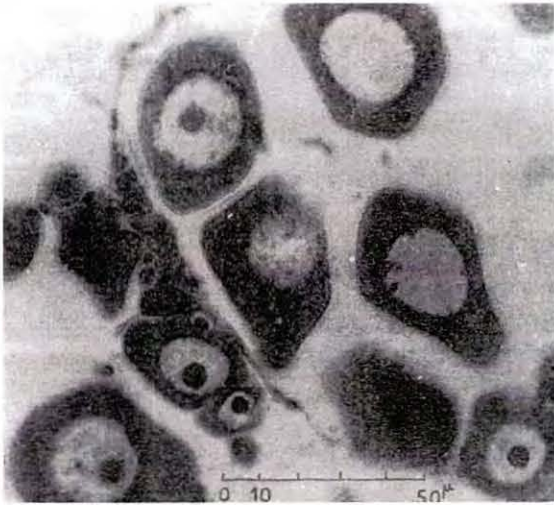
♀	♂
Reste des petits groupes d'ovogonies. De très jeunes et nombre variable d'ovocytes prévitellogéniques pédonculés sont présents.	Il reste une quantité réduite de spermatogonies et de spermatocytes I.

Rapide période de gamétogenèse dans le prolongement pendant 15-20 jours.  
 Les follicules sont comprimés à cause de la petite surface occupée par les tissus de réserve.



+ **Lubet** : Stade de restauration (entre 2 émissions successives)

♀



photo, Lubet, 1959

Multiplication des gonies dans la paroi folliculaire et formation de nombreuses ovogonies.  
Mitoses nettes.

♂

Evolution des spermatogonies le long des parois folliculaires.

♀

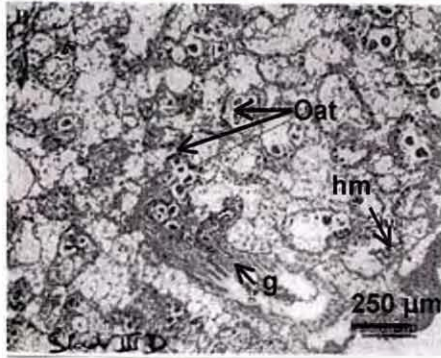


photo Suarez, 2005

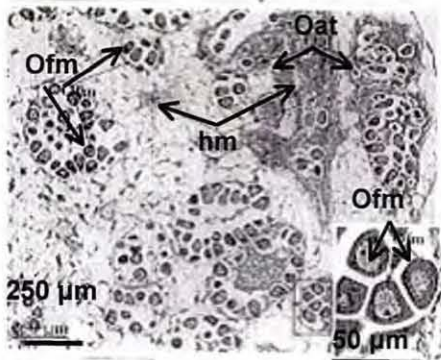


photo Suarez, 2005

Encadré :  
Infiltration hémocytaire

♂

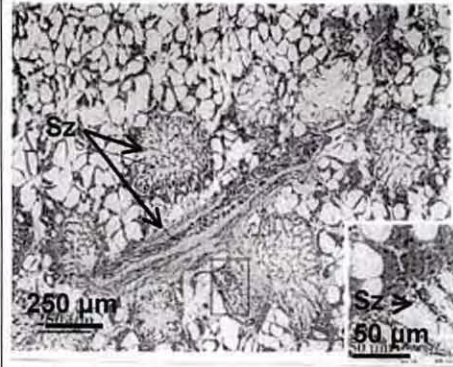
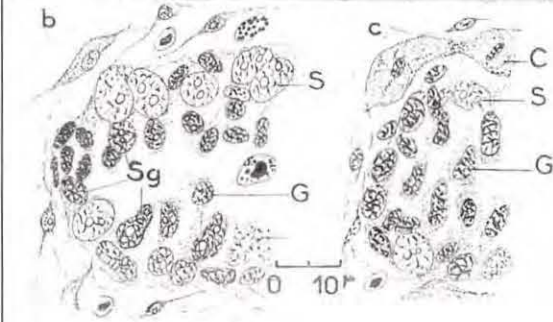
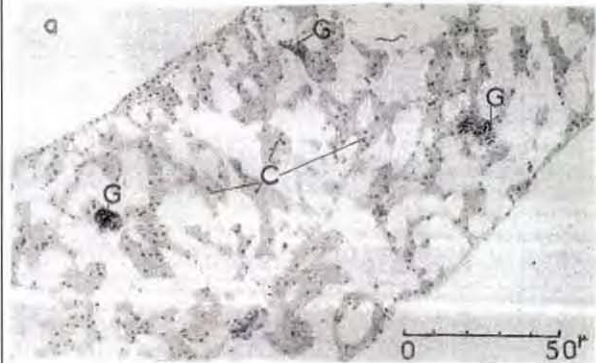


photo Suarez, 2005



schéma, Lubet, 1959

**+ Suarez :**

Augmentation des cellules adipeuses.  
Accumulation considérable d'hémocytes à l'intérieur et à l'extérieur des follicules et dans le gonoducte (probablement avec fonction de phagocytose).

**+ Lubet :**

Les émissions les plus tardives libèrent moins de gamètes que les premières (mars – avril).  
Pendant le mois de mai ou début juin, suivant les individus, stations ou années, l'activité génitale va s'arrêter complètement.

Observations :

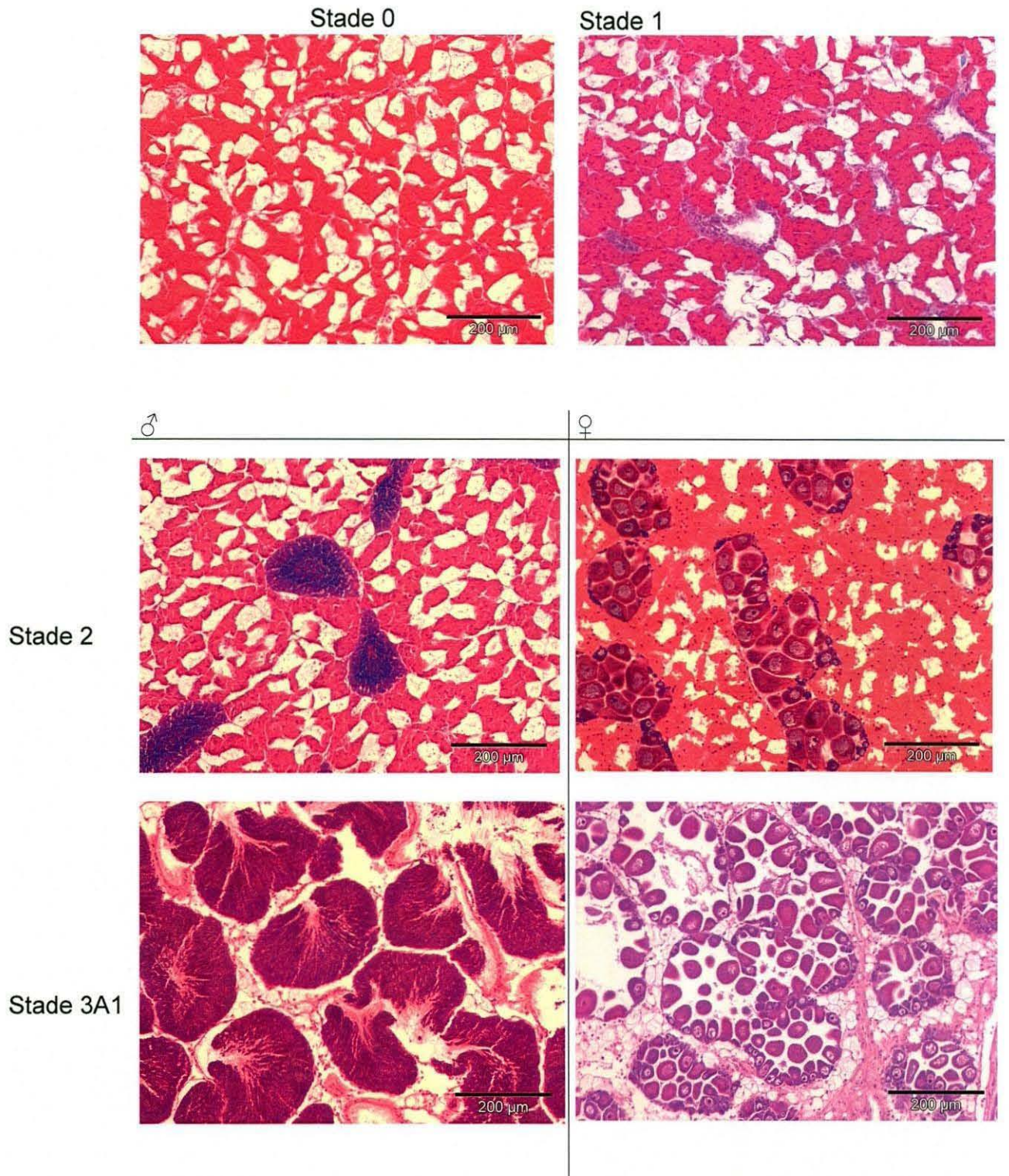
- Diminution du diamètre des follicules.
- Afflux considérables de cellules sanguines (dont amoebocytes).
- Noyau de forme elliptique.
- Amas de cellules sanguines autour d'un ovocyte ou d'un groupe de spermatozoïde.
- Follicules apparaissent presque vides à l'exception de quelques gamètes résiduels et d'amoebocytes.
- Augmentation des cellules adipo-granuleuses provoque un tassement des follicules qui deviennent alors très aplatis.
- Cellules mères et gonies se divisent.
- On retrouve des formations nécrotiques à allure syncytiale.
- Forme lobée des noyaux des spermatogonies ou ovogonies.
- Les gonies se tassent.

Légende :

**ADG** : cellule adipogranuleuse  
**g** : gonoducte  
**hm** : hémocyte  
**nt** : nuclei translucide  
**Oat** : ovocyte atrésique  
**Ofm** : ovocyte résiduel  
**Og** : ovogonie  
**Opr** : ovocyte en périvitellogénèse  
**Ovp** : ovocyte pédonculé en périvitellogénèse  
**Sd** : spermatide  
**Sg** : spermatogonie  
**Sp I** : spermatocyte I  
**Sz** : spermatozoïde  
**VC** : cellule vésiculaire

## Annexe 2

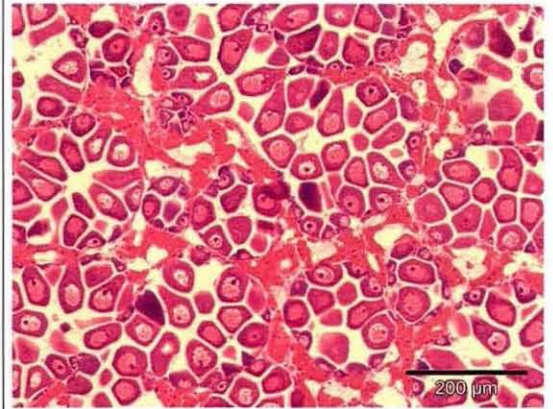
### Caractérisation des stades au travers de nos observations Photographies numériques réalisées avec le logiciel AnalySIS (Soft Imaging System GmbH, v5.0)



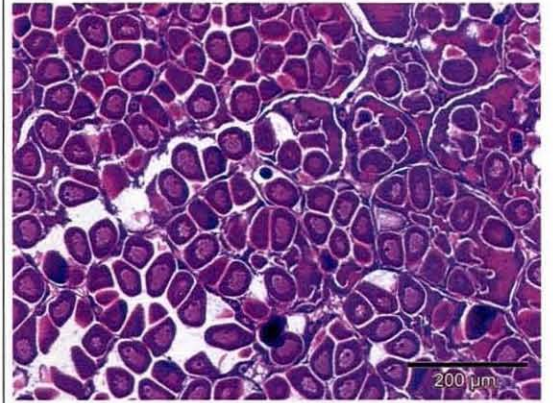
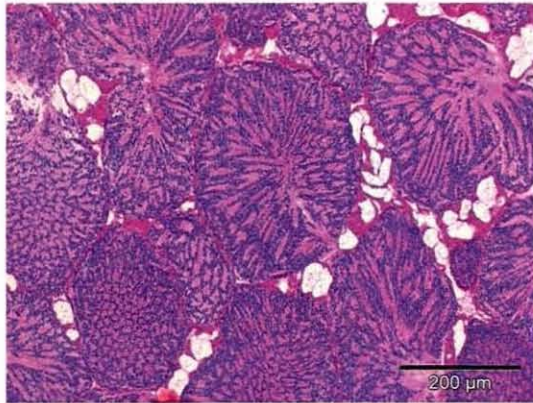
♂

♀

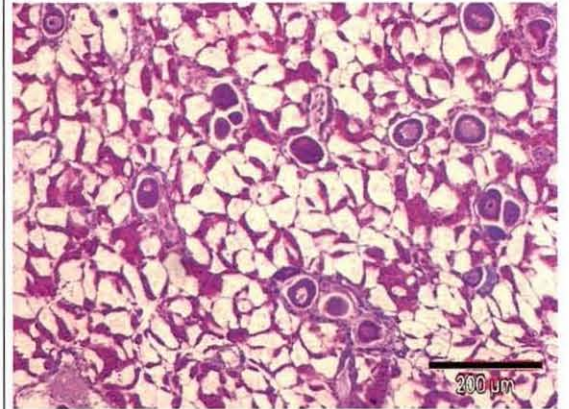
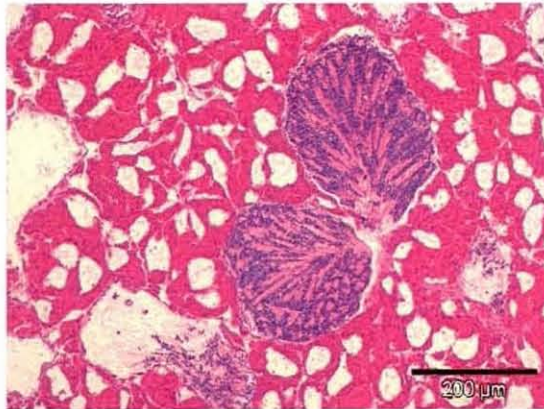
Stade 3A2



Stade B



Stade C



Stade D

