

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ DE CAEN
(U.E.R. DES SCIENCES DE LA VIE
ET DU COMPORTEMENT)

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

DOCTEUR DE SPÉCIALITÉ (3^e CYCLE)
EN BIOLOGIE ANIMALE

PAR

Michel MASSON

Etude expérimentale de la croissance et de la nutrition de *Mytilus*
Galloprovincialis (LMK) (Mollusque pélécy-pode)

TOME I : TEXTE

Soutenue le 15 mars 1975, devant la Commission d'Examen :

M. P. LUBET,	Président
M. W. STREIFF,	} Examinateurs
M. A. LUCAS,	
M. J. ANCELLIN,	Membre invité

UNIVERSITE DE CAEN
U.E.R. DES SCIENCES DE LA VIE ET
DU COMPORTEMENT

ANNEE UNIVERSITAIRE 1974 - 1975

M. JACQUET	Professeur - MICROBIOLOGIE
M. PAREYN	Professeur - GEOLOGIE
Mme GAYRAL	Professeur - BOTANIQUE
M. BINET	Professeur - PHYSIOLOGIE VEGETALE
M. RYBAK	Professeur - PHYSIOLOGIE ANIMALE
M. LUBET	Professeur - ZOOLOGIE Directeur de l'U.E.R. des Sciences de la Vie et du Comportement
M. SIGNORET	Professeur - EMBRYOLOGIE
M. VICTOROFF	Professeur - PSYCHOLOGIE
Mlle DEMEUSY	Professeur - BIOLOGIE ANIMALE
M. DOGUET	Professeur sans chaire - BIOLOGIE
M. MABBOUX STROMBERG	Professeur sans chaire - PHYSIQUE COSMIQUE
M. KAUFFMANN	Professeur sans chaire - PHYSIOLOGIE BACTERIENNE
M. BOULET	Professeur sans chaire - PSYCHOPHYSIOLOGIE
M. BOIVINET	Professeur sans chaire - PHYSIOLOGIE ANIMALE
M. SAUSSEY	Professeur sans chaire - ZOOLOGIE
M. d'ALCHE	Maître de Conférences - PHYSIOLOGIE ANIMALE
M. STREIFF	Professeur - PSYCHOPHYSIOLOGIE
M. DREVILLON	Chargé d'Enseignement - PSYCHOLOGIE

AVANT-PROPOS

Je tiens à exprimer ici ma respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur LUBET, Directeur de l'U.E.R. des Sciences de la Vie et du Comportement à l'Université de CAEN, qui a accepté de présider le jury de cette thèse. Il m'a accueilli dans son Laboratoire, m'a donné l'idée de base de ce travail, procuré les moyens nécessaires à sa réalisation et prodigué de précieux conseils. Je lui en suis extrêmement reconnaissant.

Je sais gré à ceux qui ont bien voulu accepter de juger ce travail, Monsieur le Professeur STREIFF, de l'U.E.R. des Sciences de la Vie et du Comportement de l'Université de CAEN, Monsieur le Professeur LUCAS, de l'Université de Bretagne Occidentale, qui m'a, en outre, accueilli dans son Laboratoire et initié avec son équipe, aux techniques de la conchyologie expérimentale. Monsieur J. ANCELLIN, Chef du Laboratoire de Radioécologie Marine du C.E.A. de la Hague, en acceptant de faire partie de ce jury m'apporte un précieux encouragement pour mon travail futur au sein de son équipe.

J'exprime ma profonde sympathie à mes collègues du Laboratoire maritime de LUC-sur-MER, Monsieur et Madame LE GALL, Mesdames HERLIN et FERAL, Monsieur POUVREAU, Monsieur D. LE FERON de LONGCAMP, actuellement responsable de l'écloserie du G.O.M. à SAINT-VAAST-LA-HOUGUE, qui m'ont aidé techniquement et moralement au cours de ces deux années en leur compagnie.

Monsieur J.P. DESMASURES a réalisé l'appareillage nécessaire à ce travail, Mademoiselle C. SIMON a effectué la dactylographie et la présentation du mémoire, je les en remercie très sincèrement.

SOMMAIRE

- INTRODUCTION

- CHAPITRE I : TECHNIQUES D'ELEVAGE DES LARVES - MATERIEL ET METHODES

A. INTRODUCTION.

B. EAU DE MER.

1. Prélèvement p 3
2. Filtration p 4
3. Caractéristiques physico-chimiques p 4

C. LES GENITEURS.

1. Choix de l'espèce p 5
2. Récolte, Transport, Acclimation p 5
3. Induction de la ponte p 6
4. Fécondation p 6

D. ELEVAGE DES LARVES

1. Densité de population p 6
2. Qualités chimiques et bactériologiques du milieu
d'élevage p 7

E. CULTURE D'ALGUES.

1. Matériel et local p 8
2. Milieux de culture p 9
3. Provenance et traitement des souches p 12

- CHAPITRE II : L'EVOLUTION LARVAIRE DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ET DE
MYTILUS EDULIS.

A. DEVELOPPEMENT LARVAIRE

1. Historique	p 14
2. Obtention des gamètes. Fécondation	p 15
a) Emission des gamètes	p 15
b) Structure de l'ovocyte à maturité	p 16
c) Structure du spermatozoïde	p 16
d) Fécondation	p 17
3. Les stades larvaires	p 18
a) Trochophore	p 18
b) Véligère	p 18
Jeune véligère	p 18
Larve "D"	p 18
Véligère à umbo	p 19
Véligère ocellée	p 19
Pédivéligère	p 19
c) Post-larve	p 20
d) Jeune moule	p 21

B. DIAGNOSE ET SEPARATION TAXONOMIQUE DE *MYTILUS EDULIS* ET
MYTILUS GALLOPROVINCIALIS. PROBLEME DE L'HYBRIDATION.

1. Statut taxonomique de <i>Mytilus edulis</i> et de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	p 21
a) Historique	p 21
b) Répartition géographique	p 22

c) Caractères morphologiques permettant d'établir une diagnose	p 23
d) Biologie	p 24
e) Conclusion	p 25

2. Croissance comparée des Larves de *Mytilus galloprovincialis*, de *Mytilus edulis* et de leurs hybrides.

a) Buts de cette étude	p 25
b) Difficultés et limites des méthodes de mesures ...	p 26
c) Protocole expérimental	p 27
d) Résultats	p 28
e) Discussion	p 32
Séparation spécifique de <i>Mytilus edulis</i> et <i>Mytilus galloprovincialis</i>	p 32
Importance et rôle de l'ovocyte dans le développement larvaire	p 41

- CHAPITRE III : ORGANOGENESE, ANATOMIE ET FONCTIONNEMENT DU TRACTUS DIGESTIF LARVAIRE.

A. MATERIELS ET METHODES.

1. Observation in toto	p 42
2. Techniques de fixation et d'inclusion	p 42
3. Ultrastructure	p 43

B. ORGANOGENESE DU TUBE DIGESTIF.

1. Trochophore	p 44
2. Larve "D"	p 44
3. Véligère	p 45
4. Métamorphose	p 46
5. Jeune moule	p 47

- CHAPITRE IV : LE REGIME ALIMENTAIRE DES LARVES - NUTRITION
ARTIFICIELLE.

A. INTRODUCTION.

B. RAPPELS DES TRAVAUX ANTERIEURS.

1. *Algues unicellulaires vivantes de culture* p 67
2. *Aliments artificiels* p 69

C. RECHERCHES PERSONNELLES.

1. *Aliments étudiés* p 70
 - a) *Algues unicellulaires de culture* p 70
 - b) *Aliments artificiels* p 70
2. *Capture. Toxicité* p 73
 - a) *Définition et méthodes* p 73
 - b) *Résultats* p 74
3. *Croissance et mortalité* p 75
 - a) *Larves témoins à jeûn* p 75
 - b) *Larves témoins nourries avec du phytoplancton vivant* p 77
 - c) *Larves nourries avec des aliments artificiels depuis
le stade D* p 78
 - d) *Larves nourries à partir du 20e jour de leur déve-
loppement avec des aliments artificiels seuls ou en
complémentation* p 83

D. DISCUSSION.

- CONCLUSIONS GENERALES p 89
- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES p 92

C. HISTOLOGIE ET CYTOLOGIE.

1. Velum	p 47
2. L'oesophage	p 49
3. L'estomac	p 49
4. La glande digestive	p 50
5. Intestin et rectum	p 54
6. Cellules de type amœbocytaire. Cellules mésenchy- mateuses	p 54

D. ESSAIS DE RECHERCHES ENZYMATIQUES.

1. Principe	p 55
2. Matériel et méthode	p 56
3. Résultats et discussion	p 58

E. PRISE DE NOURRITURE.

1. Capture	p 60
2. Tri des particules	p 60
3. Problèmes des éléments dissous	p 61
4. Taux de filtration	p 61
5. Mouvements du bol alimentaire	p 62
a) Fonctionnement de la tige cristalline	p 62
b) Contractions au niveau de la glande digestive	p 63

F. DISCUSSION.

INTRODUCTION

L'élevage au Laboratoire des larves de Pélécypodes ou chonchologie expérimentale est la voie de recherche sur les mollusques qui a connu la progression la plus spectaculaire au cours de ces vingt dernières années. Les écoles anglo-saxones du Laboratoire de CONWAY en Angleterre et de MILFORD aux Etats-Unis ont obtenu des résultats reproductibles qui permettent d'élever des espèces d'intérêt commercial. L'échelle expérimentale a été dépassée pour atteindre un niveau industriel de production dans des "hatcheries" ou écloseries de naissain.

L'essentiel des travaux a consisté à déterminer les paramètres optima conditionnant la réussite des élevages d'Ostréidés et de Vénéridés.

En France, il a fallu attendre la création du Centre National d'Exploitation des Océans (C.N.E.X.O.) pour que l'aquaculture des organismes marins soit abordée à partir de 1970 au Centre Océanologique de Bretagne et au Laboratoire de Zoologie de l'Université de BREST.

C'est dans le cadre de contrats établis avec le C.N.E.X.O (72/250, 73/850) sur la biologie des Mollusques lamellibranches que nous avons élevé des larves de Pélécypodes au Laboratoire Maritime de LUC-sur-MER dans le but d'étudier la possibilité de les nourrir à l'aide d'aliments artificiels.

Il nous a fallu choisir une espèce qui permette d'expérimenter presque toute l'année, nous avons retenu *Mytilus galloprovincialis*.

Son élevage à partir de la fécondation artificielle nous a permis d'élargir le cadre du travail tracé initialement en abordant des aspects peu connus de son anatomie, de sa biologie et de son comportement alimentaire nécessaires à une meilleure compréhension des phénomènes liés à la nutrition larvaire.

- Dans une première partie, nous étudierons le développement larvaire en définissant les séquences (stades) et les modalités (biométrie, vitesse) de la croissance chez *Mytilus galloprovincialis* et chez *Mytilus edulis*.

- Dans la deuxième partie nous avons entrepris l'étude de l'anatomie et de la physiologie des organes impliqués dans la prise de nourriture et la digestion des aliments.

- La troisième partie est consacrée à la description et à la discussion des expériences d'alimentation contrôlées effectuées à l'aide d'algues de culture et d'aliments artificiels.

CHAPITRE I

TECHNIQUES D'ELEVAGE DES LARVES - MATERIEL ET METHODES

A. INTRODUCTION.

Les techniques d'élevage que nous avons employées ont été mises au point aux U.S.A. par LOOSANOFF et DAVIS (1963) ; LUCAS (1970), les a réutilisées et a confirmé leur valeur.

Les gamètes des pélécy-podes mûrs sont recueillis après un choc thermique qui provoque leur émission. Les ovules sont fécondés par quelques gouttes de suspension de spermatozoïdes. Après quelques heures d'incubation et de développement embryonnaire, les larves sont placées dans des conditions d'élevage strictes et contrôlées.

Après une phase nageuse de quelques semaines, les larves subissent une "métamorphose" et se fixent sur un substrat. On les désigne alors sous le nom de naissain.

B. EAU DE MER.

1. Prélèvement.

L'eau de mer est prélevée au large du Laboratoire de LUC-sur-MER par une pompe en acier inoxydable et stockée dans un réservoir. Elle est distribuée sous pression à chaque pailasse par une canalisation en chlorure de polyvinyle.

2. Filtration.

L'eau de mer est d'abord débarrassée des grosses impuretés sur deux filtres à sable et laine de verre. Une stérilisation est ensuite effectuée par passage dans un manchon à ultra-violets (Technique de LOOSANOFF, 1963) (Pl.15, fig. C), ou par filtration forcée à l'air comprimé sur une membrane Sartorius de 10 μ , puis de 0,2 μ de porosité (Pl.15, fig. D), qui retient les germes.

3. Caractéristiques physico-chimiques.

Les travaux de LOOSANOFF et DAVIS (1963), de CALABRESE et BRENKO (1969), de BAYNE (1965), de BRENKO (1972) sur les larves de moules ont montré le rôle de l'influence de la température et de la salinité sur le développement embryonnaire et la croissance.

BAYNE chez *Mytilus edulis*, BRENKO chez *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* ont étudié ces actions. Leurs résultats montrent que les optima de croissance se situent comme suit :

	T°C	S°/‰
<i>Mytilus edulis</i>	15 à 20°C	20 à 30°/‰
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	15 à 20°C	30 à 35°/‰

A LUC-sur-MER, la salinité de l'eau de mer pompée varie entre 30 et 34°/‰, sa température entre 8°C et 18°C.

La température d'élevage est maintenue à 20°C \pm 1 et le milieu est saturé en oxygène dissous.

Des mesures régulières n'ont pas révélé de variations du pH de l'eau des élevages.

La lumière est celle de la salle d'élevage exposée au nord.

C. LES GENITEURS.

1. Choix de l'espèce.

Notre choix a porté sur l'élevage des larves de Mytilidés : essentiellement *Mytilus galloprovincialis* et *Mytilus edulis*.

En effet, ces espèces sont capables de fournir dans la nature des géniteurs presque toute l'année. Généralement, les espèces de pélécy-podes disponibles en grandes quantités ont une période de ponte, peu étalée dans l'année, printanière ou estivale suivie quelquefois d'une période automnale de faible intensité. Notre Laboratoire ne disposant pas de systèmes de chauffage ou de réfrigération nécessaires au conditionnement des géniteurs hors saison de maturation sexuelle (LOOSANOFF et DAVIS, 1963; BAYNE, 1965), il était donc indispensable pour pouvoir travailler toute l'année de nous adresser à des espèces à cycle sexuel très étalé.

Les mytilidés ont une maturité sexuelle hivernale et printanière. Ils peuvent avoir deux ou trois émissions de gamètes en Normandie pour *Mytilus edulis* (LUBET et LE GALL, 1967 ; LE GALL, 1969), en février, mars-avril, mai-juin. En Méditerranée (TOULON), ou en Atlantique (VIGO) les émissions ont lieu depuis le mois de septembre à celui de juillet de l'année suivante pour *Mytilus galloprovincialis* (LUBET et BOURCART, 1967) (LUBET, 1970).

2. Récolte. Transport. Aclimation.

Les géniteurs sont prélevés en divers points des côtes, BAIE de SEINE, VIGO, TOULON (voir stations Pl. 1, fig. A). Ils sont transportés à sec dans une enceinte réfrigérée à 4°C afin de ne pas provoquer l'émission des produits génitaux en cours de transport. Dès leur arrivée les géniteurs sont placés dans de l'eau de mer courante à la température de la station de LUC. Il y resteront plusieurs jours afin de retrouver un état physiologique satisfaisant.

3. Induction de la ponte.

Les géniteurs sont soigneusement débarrassés par grattage de l'épifaune et de l'épiflore fixées sur leur coquille. Ils sont lavés pendant cinq minutes dans une eau de mer contenant de l'hypochlorite de sodium à 3 parties pour million, afin de tuer les germes. Ils sont ensuite rincés à l'eau douce et à l'eau de mer filtrée.

Les géniteurs sont placés individuellement dans des cristallisoirs d'eau de mer filtrée de 250 ml. Ces cristallisoirs sont chauffés à l'avance dans un bain-marie réglé de façon à ce que l'eau soit à 28°C.

Le choc thermique induit généralement l'émission des gamètes. En cas d'échec, la ponte peut être obtenue par stimulation du muscle adducteur postérieur.

4. Fécondation.

Les ovocytes de couleur jaune ou orangée sont émis sous forme de cordons et tombent au fond du récipient. Ils sont recueillis à la pipette, lavés et décantés pour être séparés des fécès et pseudofécès riches en bactéries et ciliés. Les ovocytes d'une femelle sont fécondés dans un récipient d'eau de mer stérile d'1 litre par 1 ml de suspension de spermatozoïdes d'un mâle, afin d'éviter une polyspermie.

Les premières manifestations morphologiques de l'embryogénèse commencent 80 mn après la fécondation. 24 à 48 H après, les larves obtenues nagent et sont pourvues d'une coquille. Elles sont filtrées sur tamis métalliques à mailles de 40 μ , rincées, comptées et réparties dans les volumes d'élevage.

D. ELEVAGE DES LARVES.

1. Densité de population.

LOOSANOFF et DAVIS (1963) ont mis en évidence l'influence néfaste pour la survie des larves d'une trop grande concentration larvaire. La surpopulation influe sur le taux de croissance et favorise l'apparition de mala-

dies entraînant de fortes mortalités.

Dans nos élevages, nous avons toujours travaillé à la densité maximum de 10.000 larves par litre dans les limites des précisions de notre méthode de comptage et après avoir homogénéisé le milieu avec une palette perforée.

2. Qualités chimiques et bactériologiques du milieu d'élevage.

Ces problèmes ont fait l'objet de très nombreux travaux. Certaines eaux semblent, pour des raisons inconnues plus favorables que d'autres pour l'élevage des invertébrés marins et pour la culture du phytoplancton (WILSON et ARMSTRONG, 1958). Certaines sont rendues toxiques par la présence d'ions métalliques dissouts pouvant être apportés par le système de pompage de l'eau de mer ou par les canalisations.

La qualité bactériologique de l'eau de mer est donc particulièrement importante. De nombreux travaux (DAVIS, 1950 ; WALNE, 1956 ; 1958 ; GUILLARD, 1959 ; LOOSANOFF et DAVIS, 1963 ; TUBIASH, CHANLEY et LEIFSON, 1965 ; LUCAS et PRIEUR, 1974 ; PRIEUR, 1974) montrent que certaines souches de bactéries sont pathogènes pour les larves et entraînent des maladies qui détruisent les élevages en 24 H.

L'emploi d'antibiotiques permet dans une certaine mesure, de stabiliser les populations bactériennes.

Après avoir essayé divers antibiotiques (Auréomycine, Speciline G) à diverses doses, et après avoir connu de nombreux échecs, nous avons à la suite des travaux de LE PENNEC et PRIEUR (1973, 1974) ajouté 8 mg de chloramphénicol par litre dans nos élevages. Cet antibiotique nous a permis de limiter les développements bactériens dans la majorité de nos élevages. Malgré ces précautions, certains élevages ont connu des pollutions bactériennes intenses, particulièrement ceux où nous avons introduit des aliments artificiels qui apportaient et favorisaient le développement de germes.

L'eau de mer des élevages est changée au maximum tous les deux jours. Chaque fois les larves sont recueillies sur tamis métalliques. Ces changements d'eau permettent de limiter les développements de bactéries, de ciliés et d'éliminer les toxines dues aux activités métaboliques des larves. Le tamis et le récipient d'élevage sont ébouillantés entre chaque manipulation pour éviter la contamination par les germes bactériens.

E. CULTURE D'ALGUES.

Les modalités de la nutrition chez les larves de pélecypodes seront discutées aux chapitres III et IV. Signalons, dès maintenant, qu'elle se fait traditionnellement à l'aide de phytoplancton vivant cultivé selon une méthodologie précise.

Celle que nous avons employée a été mise au point par WALNE (1966), utilisée à BREST par LUCAS et son équipe, et au Centre Océanologique de Bretagne par FLASSCH (1974). Nous l'avons adaptée aux ressources propres du Laboratoire de LUC-sur-MER.

1. Matériel et local.

La salle de culture d'algues (Pl 15, fig. A), est une pièce recevant uniquement un éclairage artificiel produit par 20 tubes "lumière du jour GroLux" de 40 watts fournissant 1000 à 1500 lux. Une horloge électrique règle la durée d'éclairement pendant 16 H sur 24 H. Une phase d'obscurité est nécessaire pour permettre un repos physiologique indispensable à la photosynthèse. La climatisation du local est automatisée par un double système : un chauffage électrique branché sur un thermorégulateur et une unité de réfrigération à ventilation. La température est ainsi maintenue à $19^{\circ}\text{C} \pm 1$. La plupart des algues présentent en effet un développement optimal entre 18 et 23 C (UKELESS, 1961).

Les algues sont cultivées dans des ballons en pyrex de 10 litres, sur des milieux à base d'eau de mer enrichie en sels minéraux.

Les cultures sont aérées et brassées par un bullage d'air comprimé filtré sur coton stérile. Cette aération empêche la sédimentation par phototactisme sur les parois et favorise la pénétration uniforme de la lumière pour toutes les cellules algales.

Bien que WALNE (1966) préconise un enrichissement de l'air en CO_2 , nous n'avons pas utilisé ce procédé bénéfique pour la photosynthèse. Il est difficile à régler et peut entraîner des modifications néfastes de l'équilibre des bicarbonates.

2. Milieux de culture.

Après des essais avec plusieurs milieux, nous avons retenu "l'Erd-Schreiber" modifié par COSSON (1) et le milieu de "Conway" (WALNE, 1966).

Les milieux de culture sont préparés en ajoutant à de l'eau de mer filtrée sur membrane de porosité $0,2 \mu$, une quantité adéquate de solution mère conservée à 4°C . Ils sont stérilisés à l'autoclave pendant une heure à 120°C . Malgré ces précautions nos cultures d'algues ne peuvent être axéniques. Les souches ne le sont pas et les tuyauteries sont rapidement contaminées au cours des opérations de prélèvements et de remplissage malgré une stérilisation à la lampe à alcool.

(1). Nous remercions Monsieur COSSON (Laboratoire d'Algologie - Université de CAEN), pour nous avoir communiqué la formule de son milieu de culture.

MILIEU "ERD-SCHREIBER modifié COSSON" :

Pour un litre :

- 1 litre d'eau de mer
- 10 ml de solution saline
- 50 ml d'extrait de sol
- 3 ml de PII métal
- 0,5 g de trisma (pH 8,3) (Merck)
- Filtrer
- Autoclaver 30 mn à 120°C.

Solution saline :

- 400 ml d'eau bidistillée
- 4 g de $\text{NO}_3 \text{ Na}$
- 0,8 g de $\text{PO}_4 \text{ HNa}_2$

Extrait de sol :

- 1 kg de terre + 2 litres d'eau de mer
- Stériliser 20 mn
- Filtrer
- Stériliser 10 mn.

Solution PII pour 100 ml

- EDTA 100 g
- FeCl_3 1 g
- H_3BO_3 10 g
- MnCl_2 4 g
- ZnCl_2 0,5 g
- CoCl_2 0,1 g.

MILIEU DE "CONWAY" :

- $\text{FeCl}_3 (6\text{H}_2\text{O})$ 2,6 g
- $\text{MnCl}_2 (4\text{H}_2\text{O})$ 0,72 g
- H_3Bo_3 67,20 g
- $\text{Na}_2 \text{ EDTA (Titriplex)}$ 90,00 g
- $\text{NaH}_2\text{Po}_4 (2\text{H}_2\text{O})$ 40,00 g
- NaNO_3 200,00 g
- Trace solution métaux 2 ml
- Eau bidistillée jusqu'à 2 litres

Chauffer pour dissoudre

1 ml est ajouté à chaque litre d'eau de mer.

Solutions de traces métalliques :

- ZnCl_2 2,1 g
- $\text{CoCl}_2 (6\text{H}_2\text{O})$ 2,0 g
- $(\text{NH}_4)_6 \text{ Mo}_7 \text{ O}_{24} (4\text{H}_2\text{O})$ 0,9 g
- $\text{CuSO}_4 (5\text{H}_2\text{O})$ 2,0 g
- Eau distillée jusqu'à 100 ml
- (acidifié par HCl jusqu'à décoloration).

Vitamines :

- B 12 10 mg
- B 1 200 mg
- Eau distillée jusqu'à 200 ml
- (1 ml de vitamines/1).

3. Provenance et traitement des souches.

Les souches d'algues nous ont été fournies par le Docteur GREEN (PLYMOUTH), par Monsieur FLASSCH (Centre Océanologique de Bretagne) et par Madame LEROUX (Université de Bretagne Occidentale).

La croissance des algues présente :

- une phase de latence pendant laquelle le nombre de cellules ne varie pas ;
- une phase où le nombre de cellules croît de façon exponentielle ;
- une phase de multiplication ralentie ;
- une phase stationnaire (BLOOM) où le nombre de cellules reste pratiquement constant ;
- une phase de sénescence. La population disparaît progressivement si l'on ne repique pas la souche.

La culture des algues implique donc trois séries de manipulations (Pl. 15, fig. B).

- l'entretien des souches et le repiquage en tube à essais sur milieu liquide ou sur milieu gélosé solide ;
- la production d'inocula de quelques centaines de ml en Erlenmeyers.
- la production de volumes plus grands, de quelques dizaines de litres en ce qui nous concerne et jusqu'à plusieurs m³ pour un établissement industriel.

A LUC-sur-MER, il nous a fallu deux mois pour atteindre à partir d'un inoculum de quelques ml, un volume de 10 litres utilisable (en fin de phase exponentielle). Lorsque le ballon de 10 litres est au bloom (phase stationnaire) on prélève 1/4 ou 1/3 du volume quotidiennement pour le remplacer par le même volume de milieu frais et stérile. On peut maintenir ainsi le bloom pendant plusieurs mois. En général, au bout de quatre mois, il faut renouveler la souche car des pollutions bactériennes intenses provoquent une importante mortalité algale. De telles pollutions sont facilement décelables à l'oeil nu, car elles engendrent une agglutination des algues mortes sous forme de "grumeaux".

Les comptages des cellules sont effectués sur hématimètre de MALASSEZ pour évaluer la croissance algale et déterminer les rations alimentaires. Le pH des cultures est régulièrement contrôlé. En dehors des problèmes technologiques liés aux cultures d'algues, les pollutions bactériennes ont été pour nous un énorme obstacle. De plus, une importante pollution par détergents en mer a entraîné la mort des algues d'avril à juin 1974.

CHAPITRE II

L'EVOLUTION LARVAIRE DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* ET DE *MYTILUS EDULIS*

A. DEVELOPPEMENT LARVAIRE.

1. Historique.

Les premiers travaux concernant l'étude du développement larvaire de *Mytilus edulis* sont dus à WILSON (1886), BORISJAK (1909), MATTHEWS (1913).

FIELD (1922) a décrit le premier les divers stades larvaires de *Mytilus edulis*. Ses descriptions de l'embryogenèse à partir de fécondation artificielle des gamètes sont correctes. Par contre, ses schémas de larves prélevées dans le plancton sont discutables.

La mise au point des techniques d'élevage artificiel par LOOSANOFF et DAVIS (1963) a permis à ces auteurs d'obtenir les premiers élevages "ab ovo" de *Mytilus edulis*. C'est à BAYNE (1965) que revient le mérite d'avoir entrepris la première étude approfondie du développement larvaire de *Mytilus edulis*. Ce travail fondamental et unique nous servira constamment de référence. Actuellement les larves de *Mytilus edulis* sont obtenues en routine au Laboratoire du Professeur LUCAS à BREST pour tester l'action de souches bactériennes et de polluants.

2. Obtention des gamètes. Fécondation.

Les moules sont gonochoriques et ovipares. La fécondation est externe. La gonade est incluse dans le manteau et la masse viscérale. Elle passe par différents stades durant la période de reproduction qui ont été définis par LUBET (1959).

Les moules émettent leurs produits génitaux dans l'eau de mer lorsque leur gonade atteint le stade III A₂ (LUBET, 1959).

a) Emission des gamètes.

HERLIN-HOUTTEVILLE (1974) note la présence d'une assise musculaire doublant la basale des tubules gonadiques. Celle-ci joue vraisemblablement par ses contractions un rôle dans le transit des gamètes vers le gonoducte. La progression des produits génitaux est ainsi assurée dans le gonoducte par une importante ciliature. De plus, LUBET (1959) a observé le péristaltisme du processus génital permettant l'expulsion des gamètes.

En général, les mâles émettent les premiers leurs gamètes; leur coquille est faiblement entrebâillée pendant l'éjaculation. Le sperme forme un mince filet qui s'échappe par l'ostiole. Les ovocytes sont agglomérés sous forme de boudins de 0,1 à 0,4 mm de long. Les femelles peuvent émettre plusieurs millions d'ovocytes. La majorité des pontes présente de 200.000 à 1 million d'ovocytes. Les contractions du muscle adducteur postérieur qui sont alors observées favorisent peut-être leur évacuation de la cavité palléale.

Les ovocytes pondus sont plus denses que l'eau et tombent au fond du récipient. Dans la nature ou en groupe, la ponte des femelles semble favorisée par un principe d'origine discutée et libérée par le spermatozoïde (Hormone de GALTSOFF-DIANTLINE) mis en évidence par LUBET (1959). L'adjonction d'une goutte de sperme prélevée sur un mâle sacrifié, à l'eau de chaque géniteur peut être utilisée pour déclencher l'émission des gamètes.

b) Structure de l'ovocyte à maturité.

Au cours de la phase de prévitellogenèse l'ovocyte est profondément enraciné sur la basale de l'acinus. Au cours de la vitellogenèse, il va progressivement se pédiculiser, tout en se couvrant de microvillosités. Elles sont d'abord dénudées, hérissées de microfilaments à leur extrémité (HERLIN, 1975, sous presse). Elles seront progressivement engluées par une gangue de muccopolysaccharides pour constituer à la fin de la vitellogenèse le chorion de l'ovocyte (Pl.19, fig. A, p. 19, fig. B). De nombreux auteurs ont montré que les microvillosités et leur gangue constituaient une véritable membrane vitelline pour l'oeuf vierge qui joue un rôle très important au moment de la fécondation. Les microvillosités engrainent les digitations acrosomiales du spermatozoïde (PASTEELS, 1964). HERLIN (1975, sous presse) leur attribue, en outre, un rôle capital dans le pompage des métabolites nécessaires à la vitellogenèse. Il est vraisemblable que les microvillosités jouent ce rôle dans les jeunes stades quand elles sont dénudées. Elles assurent la récupération des produits de lyse des tissus de réserves et des ovocytes atresiques. Au cours de la vitellogenèse la cellule oeuf accumule un certain nombre de réserves qui apparaissent sous forme de grains de vitellus protidique de 0,6 à 0,8 μ et d'inclusions lipidiques. D'autre part, nous montrerons chapitre III que les ovocytes possèdent une large gamme enzymatique.

Nous avons retrouvé cette structure des microvillosités couverte de microfilaments dans l'ovocyte pondu (Pl.19, fig. A) mais aussi tout au long de l'embryogenèse et sur les épithéliums des trochophores (Pl.26, fig. A).

Il faut remarquer que l'induction artificielle de la ponte entraînera vraisemblablement des ovocytes à des stades différents avec un capital en réserve variable et par suite des capacités morphogénétiques diverses.

c) Structure du spermatozoïde.

Au microscope électronique, la tête d'un spermatozoïde apparaît ovale ou ronde ($5 \mu \times 2,5 \mu$). Elle est composée d'un acrosome en forme de coiffe, d'un noyau compact en tonnelet, d'une rosette de 4 à 5 mitochondries. Acrosome et noyau sont percés d'un long canal qui livre passage au fil

acrosomial (BOURCART, LAVALLARD et LUBET, 1965). A la tête fait suite un long flagelle et le spermatozoïde mesure environ 35 μ de long.

d) Fécondation.

La pénétration du spermatozoïde déclenche la fin de la mitose hétérotypique qui était bloquée pendant la vitellogénèse en prophase. Les tétrades deviennent apparentes ce qui a permis à LUBET (1959) de compter le nombre de chromosomes et de montrer que *Mytilus edulis* et *Mytilus gallo-provincialis* possèdent la même garniture chromosomique ($2n = 28$). La mitose homéotypique suit immédiatement. La fin de la méiose est marquée par l'apparition du 1^{er} globe polaire. 80 mn après la fécondation, se produit la première division cellulaire presque simultanément avec l'émission du 2^e globe polaire. La segmentation est de type spiral, chaque phase mitotique est marquée par un décalage de 45° des blastomères fils qui se placent entre les blastomères parentaux. Le premier clivage est inégal (Pl. 3, fig. 7). L'oeuf émet un lobe polaire et se divise en deux blastomères inégaux désignés par AB et CD selon la nomenclature de LILLIE (1895). Le lobe polaire est situé sous le blastomère CD. Au second clivage, le blastomère AB se divise en deux cellules égales. Le troisième clivage est spiral, dextrotropique et égal pour les blastomères A,B,C mais inégal pour D (Pl. 4, fig. 11). La suite des divisions des divers blastomères est difficile à suivre car elle est asynchrone et inégale. Les cellules dérivant de A,B,C sont petites et égales, celles dérivant de D sont inégales. Avant la blastulation on observe deux macromères fils de D entourés de micromères dérivant de A,B,C par un mouvement épibolique (Pl. 4, fig. 13).

Les oeufs de *Mytilus*, riches en vitellus donnent une stéroblastule à blastocoele très réduit. Le blastopore se ferme sur la face ventrale de l'embryon. La gastrulation se manifeste par une invagination stomodéale. L'embryon est cilié et mobile, il tourne sur lui-même tout en se déplaçant. (Pl. 4, fig. 16). Il passe par un stade appelé trochophore bien que la larve soit atypique (Pl. 4, fig. 17), elle ne possède pas de métatroque comme les trochophores d'annélidés.

3. Les stades larvaires.

a) Trochophore.

L'embryon atteint ce stade en 24 H. La larve en forme de toupie est large à sa partie antérieure et étroite postérieurement. Elle a un diamètre de 70 μ , est uniformément ciliée et elle possède une longue touffe apicale de cils au niveau de la plaque syncipitale, le flagellum.

Une glande coquillière se développe à partir d'un ectoderme dorsal qui s'épaissit. (Pl. 5, fig. A)

En raison de la croissance rapide dans la région située entre le blastopore et la glande coquillière l'axe de symétrie embryonnaire est altéré. Un plan de symétrie bilatéral est délimité par un axe antéropostérieur dans le prolongement du flagellum et un axe dorsoventral joignant la glande coquillière au stomodéum.

Sur la trochophore plus âgée, les cils du vélum commencent à se développer en couronne autour de la touffe apicale (prototroque) de sorte que la larve présente une double ciliature, celle de la partie antérieure devenant plus longue et plus épaisse (Pl. 5, fig. A). La trochophore possède un phototropisme négatif (BAYNE, 1965).

b) Véligère.

Jeune véligère (Pl. 5, fig. B)

La prototroque augmente de taille et forme le velum. La coquille larvaire ou prodissoconque commence à être secrétée sous forme d'une mince cuticule impaire qui se plie pour former les deux valves. (Pl. 21, fig. A). Ces dernières s'accroissent latérodorsalement le long du corps qui devient comprimé latéralement. La coquille se charge en calcaire.

Ce stade peut durer de 16 à 18 H. La larve présente selon BAYNE (1965) un géotropisme négatif.

Larve "D" (Pl. 5, fig. C ; Pl. 18, fig. A)

Ce stade est aussi appelé "straight-hinge-stage" (stade à charnière droite par les auteurs anglais).

La coquille est bien formée et le velum peut se rétracter entre les deux valves à la moindre perturbation. La touffe de cils ou flagellum semble jouer le rôle d'un organe tactile, le contact avec un obstacle entraîne la rétraction vélaire. La larve nage en suivant une trajectoire hélicoïdale caractéristique. Elle mesure $90\ \mu \times 70\ \mu$. Le stade peut durer de 1 à 15 jours selon les conditions d'élevage.

Véligère à Umbo. (Pl.6, fig.A ; pl.7, fig.B).

La larve croît de $90\ \mu$ à $230-250\ \mu$ dans le sens antéropostérieur. La coquille s'arrondit au niveau de la charnière du fait de la formation de l'umbo (charnière courbe). L'umbo permet de distinguer ce stade larvaire du précédent (charnière droite). Celui-ci peut durer de 20 à 30 jours.

Véligère oeuillée. (Pl.6, fig.B).

Lorsque la coquille atteint 220 à $250\ \mu$ de long, dans chaque lobe du manteau, une tache oculaire apparaît, au niveau de ce qui sera la première ébauche branchiale (PELSENEER, 1900, RICE, 1908). La coquille est ovale, légèrement dissymétrique. Elle est mince, fragile et présente des stries de croissance. La charnière s'épaissit. Parfois colorée en brun, elle devient caractéristique de l'espèce par la forme du plateau cardinal, du provinculum et du nombre de crénelures REËS, (1950), LE PENNEC, (1970). A ce stade le phototropisme est positif et le géotropisme négatif (BAYNE, 1965).

Pédivéligère. (Pl. 7, fig. A).

Le pied est mobile et recouvert par un épithélium abondamment cilié. Lorsque la larve atteint $260\ \mu$, il devient fonctionnel et permet la reptation. Le vélum atteint sa taille maximum mais reste fonctionnel. C'est l'ultime stade pélagique larvaire. Le phototropisme devient négatif et le géotropisme positif. La larve recherche un support pour se fixer. Des phases de reptation alternent avec des phases de nage au dessus du substrat. CARRIKER (1961) a nommé ce stade pédivéligère (*Mercenaria mercenaria*), les larves deviennent capables de se métamorphoser. BAYNE (1965) a distingué trois étapes dans ce stade chez *Mytilus edulis* : si la pédivéligère vient

rapidement au contact du substrat, elle se métamorphose et se fixe, sinon elle est capable de retarder sa métamorphose pendant plus d'un mois et demi.

1re étape : Pédivéligère I ou vraie pédivéligère. La larve possède un grand velum occupant la moitié antérieure de la cavité palléale et dans sa moitié distale un grand pied mobile, avec en général, 2 à 3 bourgeons branchiaux. Le pied ainsi que le velum servent à la locomotion.

2e étape : Pédivéligère II. Le velum commence à se nécroser. La larve peut rester 5 à 6 semaines à ce stade en cherchant les conditions favorables pour sa fixation.

3e étape : Pédivéligère III. Le velum a presque disparu sauf au niveau des tissus du palpe oral. Le pied est très actif, la larve se meut par reptation.

Pendant ce stade la croissance est faible. La larve est capable de se fixer à n'importe quel moment. Lorsque la fixation est réalisée, l'animal reprend sa croissance.

c) Post-larve. (Pl. 7, fig. B ; Pl. 18, fig. C).

Le velum a complètement disparu. Les palpes labiaux sont formés. On observe 3 à 4 filaments branchiaux. La larve est fixée par un byssus, formé de 4 à 5 filaments, mais elle peut se détacher, ramper sur le substrat puis se refixer. Dans la nature les larves se fixent préférentiellement sur des algues filamenteuses (*Ceramium*, *Polysiphonia* ...) (DEBLOOK et GEELLEN, 1958 ; BAYNE, 1965 ; LE GALL, 1969). Au Laboratoire on peut leur fournir un substrat filamenteux soyeux (BAYNE, 1965). Si les larves ne se fixent pas sur le verre propre (BAYNE, 1965), nous avons obtenu de bonnes fixations en laissant se développer sur les parois des récipients un "fouling" de phytoplancton et de bactéries. Après fixation, la croissance reprend. Le bord du manteau secrète une deuxième coquille plus épaisse et dans le prolongement de la prodissoconque : la dissoconque. (Pl. 7, fig. B). La croissance de la coquille est allométrique (la croissance en longueur est supérieure à la croissance en hauteur). Le nombre de filaments branchiaux augmente. Les cils des palpes labiaux des branchies et du bord du manteau battent synchroniquement.

d) Jeune moule.

Lorsqu'elle atteint 1 à 2 mm, dans la nature, la jeune moule se détache des algues. On la retrouve sur les substrats durs ou en sous couche au sein des moulières. Les moules sont capables de se détacher par rupture ou abandon du byssus, pour retrouver des conditions favorables de fixation définitive (LE GALL, 1969). Les déplacements se font sur des distances assez considérables à la faveur des courants.

Nous avons observé, en employant du graphite colloïdal en suspension dans l'eau de mer, que les moules secrètent par les bords du manteau un double filament de mucus. Ce filament libre dans l'eau de mer permet à la jeune moule de flotter et de se maintenir sous la surface de l'eau du bécber. Plusieurs moules peuvent se trouver groupées autour d'un même flotteur de mucus. Le filament muqueux sert aussi à coller la moule dans une anfractuosité ou contre un substrat à la faveur d'un courant provoqué par agitation de l'eau. Il constitue la première fixation avant l'émission du byssus. Ce phénomène peut expliquer la facilité avec laquelle de jeunes moules se fixent dans les canalisations de pompage, en particulier dans les centrales thermiques.

B. DIAGNOSE ET SEPARATION TAXONOMIQUE DE *MYTILUS EDULIS* ET *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*. PROBLEME DE L'HYBRIDATION.

1. Statut taxonomique de *Mytilus edulis* et de *Mytilus galloprovincialis*.

a) Historique.

Le choix que nous avons fait de *Mytilus galloprovincialis* pour obtenir des larves en abondance, presque toute l'année, nous amène à discuter de la séparation spécifique entre *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*. Ce problème a donné lieu à de nombreuses recherches et discussions, il n'est pas encore résolu. En effet, le genre *Mytilus* avait été abusivement divisé par LAMARCK en 14 espèces. PHILIPPI (1884) souligne la difficulté de distinguer ces pseudo-espèces, compte tenu de l'extraordinaire variabilité des

individus et remarque que des variétés *ex forma* ou *ex colore* n'auraient pas dû être érigées au rang d'espèce.

Depuis de nombreux travaux de JEFFREYS (1863), WEINKAUFF (1867), ISSEL (1882), CARUS (1893), PIERSANTI (1926), BOUXIN (1956), SOOT-RYAN (1955) se sont efforcés de prouver que la distinction entre *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* n'était pas valable. Ces auteurs faisant de *Mytilus galloprovincialis* une forme particulière, une race ou même une sous espèce méditerranéenne de *Mytilus edulis* (exemple *Mytilus edulis* L. variété *galloprovincialis* LMK JEFFREYS (1863).

Toutefois BUCQUOY et al (1898), LIST (1902), POURCEL (1909), LAMY (1936), RICCI (1957), LUBET (1959-1973), GENOVESE (1959), GONOIU (1968), LE GALL (1969), LEWIS et SEED (1969), SEED (1971, 1972, 1973) considèrent qu'il s'agit de deux espèces distinctes bien que les différences morphologiques qui les séparent restent faibles.

Nous résumerons ici les éléments essentiels de cette discussion.

b) Répartition géographique

- Le domaine de *Mytilus edulis* est plus nettement septentrional : Atlantique Nord (Amérique du Nord (Côtes est), Norvège (Mer Blanche), Baltique dans les zones les moins saumâtres, Mer du Nord, Îles Britanniques, Côtes de France et d'Espagne). Elle ne semble pas exister au Portugal ni en Méditerranée.

- Le domaine de *Mytilus galloprovincialis* s'étend de la côte ouest de l'Irlande (SEED, 1973) et des côtes de la Manche occidentale (Îles britanniques et France) à la mer noire en passant par les côtes atlantiques de France, d'Espagne, du Portugal, du Maroc, et les côtes méditerranéennes. Sa limite N.E se situe à CHERBOURG (LE GALL, 1969) bien que l'on en rencontre accidentellement dans le port du HAVRE. Sa limite sud se situe en un point à préciser sur les côtes du Maroc où elle est alors sympatrique avec *Perna (Mytilus) perna* LINNE.

En conclusion, *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* sont sympatriques dans une vaste région de leur aire géographique de répartition (Côtes atlantiques d'Espagne du Nord, côtes de France, d'Irlande, côtes de la Manche

occidentale, du Pays de Galles, de la Bretagne. Il faut enfin remarquer que *Mytilus galloprovincialis* est toujours peu abondante sur les Côtes méditerranéennes d'Afrique du Nord.

c) Caractères morphologiques permettant d'établir une diagnose (animaux de même taille). (Pl. 2, fig. A, B, C, D, F)

Mytilus edulis

Mytilus galloprovincialis

+ Coquille

- | | |
|---|---|
| - Crochet terminal peu aigu et non incurvé. | - Crochet légèrement subterminal, assez aigu et incurvé vers l'avant (bord ventral). |
| - Coquille allongée, équivalve, avec bord dorsal peu saillant. (coquille moins haute). | - Coquille allongée, équivalve avec un bord dorsal saillant et régulièrement arrondi. (coquille plus haute). |
| - Section transversale antérieure de la coquille à bord ventral arrondi. | - Section transversale antérieure de la coquille à bord ventral très incliné. |
| - Plateau cardinal plus étalé, charnière à 4 denticules. | - Plateau cardinal moins étalé, charnière en général à 3 denticules. |
| - Périostracum de couleur brun ou bleu. Partie prismatique de la coquille bleu violacé avec des bandes rayonnantes violettes ou noires. | - Périostracum de couleur violet pourpre ou noirâtre. Partie prismatique bleu violacé ou pourpre sans bandes rayonnantes. |

+ Insertions musculaires

- | | |
|---|---|
| - Insertion du muscle adducteur antérieur plus étalée, étroite et linéaire. | - Insertion du muscle adducteur antérieur moins étalée, plus large et circulaire. |
|---|---|

+ Manteau

- | | |
|---|--------------------------------|
| - Bord du manteau coloré en jaune brunâtre. | - Bord du manteau violet-noir. |
|---|--------------------------------|

Il faut signaler que l'on rencontre toujours (LUBET, 1959), SEED (1972-1973) des formes intermédiaires entre ces deux types (coloration du bord du manteau, contours de la coquille, forme de l'adducteur antérieur).

d) Biologie.

Croissance et biométrie.

Mytilus galloprovincialis présente une plus grande variabilité que *Mytilus edulis*. LE GALL (1969) a montré que ce phénomène dépendait essentiellement de la vitesse de croissance et de la densité de la population. Chez *Mytilus galloprovincialis* les formes les plus hautes (Rapport : Hauteur/longueur) s'observent chez les animaux à croissance rapide et dans des populations de faible densité. Quand les deux espèces coexistent dans une même biocoenose l'étude de la biométrie des individus permet de les séparer avec certitude mais ces comparaisons biométriques n'ont de valeur que pour une station donnée.

Reproduction.

L'analyse détaillée du cycle sexuel de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* coexistant dans une même biocoenose a conduit LUBET (1959) puis SEED (1971) à observer que les dates d'émission des produits sexuels étaient décalées ce qui diminuerait les possibilités d'hybridation les pontes de *Mytilus galloprovincialis* étant en général plus tardives que celles de *Mytilus edulis*.

Biochimie.

SEED (1971) a pu déceler des différences biochimiques entre la composition des protéines des muscles adducteurs de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*.

Hybridation.

LUBET (1959) a pu compter le nombre de chromosomes qui est le même ($2n = 28$) chez les *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* et réaliser l'hybridation (*Mytilus galloprovincialis* de Méditerranée femelle

(SETE) X *Mytilus edulis* (ARCACHON) qui a été conduite jusqu'au stade de la pédivéligère.

Ces résultats ont été confirmés par SEED (1971) qui a pu obtenir des véligères mais aucun de ces deux auteurs n'ont pu conduire les larves jusqu'à la métamorphose.

e) Conclusion

L'ensemble de ces travaux semblent jusqu'ici plaider pour une séparation taxonomique entre *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*. Mais souvent chez les Pélécypodes, des différences anatomiques peu visibles chez l'adulte sont beaucoup plus nettes chez la larve. RANSON (1960) a pu ainsi refaire la systématique des huîtres grâce à l'étude des prodissoconques larvaires.

Nous nous proposons donc dans ce travail de comparer les larves de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* (morphologie et croissance). Par ailleurs, nous avons repris les expériences d'hybridation qui seules pourront apporter des arguments nouveaux sur le statut taxonomique de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*.

2. Croissance comparée des larves de *Mytilus galloprovincialis*, de *Mytilus edulis* et de leurs hybrides.

a) Buts de cette étude.

De nombreux travaux ont montré et nous le verrons dans ce travail, que les larves de pélecypodes et plus particulièrement celles des Mytilidés présentent une grande variabilité de la taille qui va en s'accroissant avec le temps.

Il nous fallait, au cours d'une première phase étudier la croissance de notre matériel. Nous avons, pour cela, comparé la croissance des larves de *Mytilus galloprovincialis* qui n'avait jusqu'ici fait l'objet d'aucun travail avec celles de *Mytilus edulis* bien étudiées par LOOSANOFF et DAVIS, 1963 ; BAYNE, 1964, 1965, 1970). Par ailleurs, nous avons croisé

les deux espèces pour observer le développement éventuel des hybrides et le comparer à celui de larves intraspécifiques.

Nous avons dû définir une méthode de mesure de la croissance larvaire, compatible avec notre matériel et les moyens de notre laboratoire.

b) Difficultés et limites des méthodes de mesures.

La croissance des larves de Pélécypodes est en général appréciée en étudiant l'évolution de la moyenne des longueurs de 30 à 50 larves d'un échantillon en fonction du temps.

La mesure de la longueur des larves (plus grande distance antéro-postérieure) peut se faire soit à l'aide d'un micromètre oculaire, soit un agrandissement d'un cliché microphotographique de l'échantillon.

La première méthode, assez précise, ne permet pas de traiter de nombreux échantillon. La deuxième méthode permet de traiter un grand échantillonnage et de conserver un document photographique. La mesure de la longueur des coquilles se fait à l'aide d'une photographie d'échelle micrométrique. Cependant, la précision de cette méthode que nous avons utilisée, n'est que de 10 μ .

Nous avons observé, en doublant ou triplant, les lots de certains de nos élevages au cours d'une même expérience, que les résultats ne sont pas reproductibles. Les taux de mortalités, les pourcentages de stades observés et les moyennes des longueurs sont différents, toutes les conditions étant semblables par ailleurs (mêmes parents, mêmes paramètres d'élevage).

Nous attribuons ces différences à une double cause, d'une part la difficulté de prélever un échantillon homogène, représentatif de la population, d'autre part la variabilité des tailles de chaque stade larvaire.

Le premier écueil rencontré est le comptage et la répartition d'un même nombre de larves dans chaque récipient. Lorsque les larves sont au stade D, elles sont comptées pour être réparties à raison de 10 000 par litre. Elles sont pour cela concentrées dans une éprouvette graduée de 1 litre, homogé-

néisées avec une palette perforée. Cinq à six prélèvements de 1 ml sont effectués à la pipette, fixés au formol et comptés sous le microscope binoculaire. Les résultats varient du simple au triple. Corrélativement, le nombre de larves réparties dans chaque béccher peut varier dans les mêmes proportions.

Nous pouvons expliquer ces différences par le fait que les larves homogénéisées se rétractent dans leur coquille et tombent très rapidement dans l'éprouvette. Selon le niveau du prélèvement de l'échantillon le nombre d'individus sera variable.

Ce problème se pose aussi pour prélever les échantillons destinés aux mensurations. La sédimentation différentielle est de plus en plus importante au fur et à mesure du développement larvaire, les larves présentant une variabilité de taille croissante (150 μ à 350 μ dans un élevage de 40 jours). Au moment de la métamorphose certaines larves sont fixées et difficilement intégrables à l'échantillon.

Il conviendra donc de garder présent à l'esprit les limites de la méthode de mesure, lors de l'interprétation des résultats.

Devant ces difficultés nous avons fondé notre étude sur l'apparition de stades larvaires caractéristiques plutôt que sur la biométrie des coquilles.

c) Protocole expérimental.

Afin d'être certains de la spécificité des géniteurs nous avons prélevé des animaux dans des zones où les deux espèces présumées ne sont pas sympatriques.

Deux séries de croisements ont été effectuées :

- 1°) Le croisement de *Mytilus edulis* de VILLERS-sur-MER (Manche) avec *Mytilus galloprovincialis* de TOULON (Méditerranée). (Dans les deux sens).
- 2°) Le croisement de *Mytilus edulis* de LUC-sur-MER (Manche) avec *Mytilus galloprovincialis* de VIGO (Atlantique). (Dans les deux sens).

Dans chaque cas nous avons élevé les larves dans des conditions identiques. Elles résultent de la fécondation artificielle des gamètes d'un seul couple de chaque espèce. Elles sont élevées dans des récipients de six litres d'eau de mer filtrée. L'eau est changée chaque jour et additionnée de 8 mg de chloramphénicol par litre. Au moment de la métamorphose, le renouvellement de l'eau est moins fréquent et le récipient n'est plus nettoyé. Ceci permet le développement d'un film bactérien et algal sur les parois qui facilite la fixation des larves. Les larves sont nourries de la même quantité de *Monochrysis lutheri* chaque jour.

d) Résultats.

Pour la première série, si l'hybridation entre femelle de *Mytilus galloprovincialis* et mâle de *Mytilus edulis* a réussi, celle entre femelle de *Mytilus edulis* et mâle de *Mytilus galloprovincialis* n'a pas donné un nombre suffisant de larves, la plupart de celles-ci étant monstrueuses et non viables

Nous n'avons pas pu suivre la croissance de cette hybridation. Les véligères ocellées sont apparues 35 à 40 jours après la fécondation pour les larves d'origine intraspécifiques comme pour celles d'origine interspécifiques. La moyenne des longueurs des larves de la population, à l'apparition de ce stade, est de 241 μ pour *Mytilus edulis*, et de 191 μ pour *Mytilus galloprovincialis* et de 204 μ pour les hybrides nés du croisement de *Mytilus galloprovincialis* femelle par *Mytilus edulis* mâle. Les premières fixations ont lieu plus tôt pour *Mytilus edulis* que pour *Mytilus galloprovincialis*. La moyenne des longueurs de toutes les larves de la population de *Mytilus edulis* est supérieure de 60 μ à celle de *Mytilus galloprovincialis*. La moyenne des longueurs des hybrides est comparable à celle des larves de *Mytilus galloprovincialis*. Les mêmes constatations peuvent être faites au moment de la fixation massive. (10 à 20 % des larves se sont fixées dans chaque élevage). La fixation massive de *Mytilus edulis* a devancé celle de *Mytilus galloprovincialis* et celle des hybrides avec une différence des moyennes des longueurs importantes (20 à 40 μ). (Tableaux n° 1, 2, 3).

CROISSANCE DE *MYTILUS EDULIS* (VILLERS-sur-MER)

- 1re Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des stades larvaires
17.1.1974	2	105	Larves D
19.1.1974	4	117	
23.1.1974	8	137	
26.1.1974	11	143	
29.1.1974	14	179	
2.2.1974	18	182	Véligères
6.2.1974	22	209	
10.2.1974	26	226	
12.2.1974	28	229	
17.2.1974	35	241	Véligères oeuillées
19.2.1974	37	257	
23.2.1974	41	266	Pédivéligères
27.2.1974	47	299	1 ^o fixations
7.3.1974	55	304	
10.3.1974	58	315	
15.3.1974	63	-	Fixation massive
20.3.1974	68	342	

TABLEAU 1

CROISSANCE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (TOULON)

- 1re Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des stades larvaires
17.1.1974	2	107	Larves D
19.1.1974	4	117	
23.1.1974	8	131	
26.1.1974	11	134	
29.1.1974	14	147	Véligères
2.2.1974	18	166	
6.2.1974	22	178	
10.2.1974	26	182	
12.2.1974	28	-	
15.2.1974	31	191	
17.2.1974	35	-	Véligères ocellées
19.2.1974	37	190	
23.2.1974	41	194	
27.2.1974	47	222	Pédivéligères
7.3.1974	55	234	
10.3.1974	58	239	1 ^o fixations
15.3.1974	63	243	
20.3.1974	68	266	
27.3.1974	75	286	Fixation massive

TABLEAU 2

CROISSANCE DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* FEMELLE
CROISE PAR *MYTILUS EDULIS* MALE (VILLERS-sur-MER)

- 1re Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des stades larvaires
17.1.1974	2	104	Larves D
19.1.1974	4	121	
23.1.1974	8	138	
26.1.1974	11	146	
29.1.1974	14	164	
2.2.1974	18	176	Véligères
6.2.1974	22	186	
10.2.1974	28	184	
15.2.1974	31	189	
17.2.1974	35	198	
19.2.1974	37	198	
23.2.1974	41	204	Véligère ocellée
27.2.1974	47	220	
7.3.1974	55	232	
10.3.1974	58	241	Pédivéligères
15.3.1974	63	241	
20.3.1974	68	257	1 ^{re} fixations
27.3.1974	75	275	
1.4.1974	80	287	Fixation massive

Les résultats de la deuxième série confirment ceux de la première série. Les larves proviennent de géniteurs différents de ceux de la première série. Les fécondations intraspécifiques comme les interspécifiques fournissent des larves viables qui se métamorphosent. La mortalité est inférieure à 20 %. 5 à 15 % de la population initiale s'est métamorphosée dans chaque élevage. Le décalage entre l'apparition des stades dans chaque population est comparable à celui observé pour la première série. La différence des moyennes des longueurs est aussi semblable. Les hybrides se comportent comme les larves provenant des géniteurs ayant fourni les ovocytes. (Tableaux n° 4, 5, 6, 7).

e) Discussion.

Les courbes de croissance des populations, pour les deux séries expérimentales (Pl. 11, fig. A ; Pl. 12, fig. A) montrent que *Mytilus edulis* a une croissance plus rapide que *Mytilus galloprovincialis* dans nos conditions expérimentales. Chaque courbe de croissance des hybrides se rapproche de la courbe de croissance de l'espèce ayant fourni les ovocytes.

Les hybrides sont viables et peuvent se métamorphoser. Les moules hybrides ainsi que les intraspécifiques sont toujours élevés au Laboratoire. Nous espérons les faire parvenir à leur taille adulte afin d'effectuer des études biométriques sur les coquilles. Cette étude permettra de vérifier si les différences observées par LE GALL (1969) dans le rapport hauteur/longueur entre les deux "espèces" se retrouvent chez les animaux élevés dans les mêmes conditions. Par ailleurs, comme SEED (1973) l'a remarqué sur les côtes ouest et sud de l'Irlande où *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* sont sympatriques, le nombre de formes intermédiaires est particulièrement élevé ; cet auteur estime que le taux d'hybridation serait important dans cette région. Nos expériences confirment la réalité de cette possibilité.

α Séparation spécifique de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*.

L'obtention au Laboratoire d'hybrides nous permet d'envisager une approche expérimentale de l'étude du problème de la séparation spécifique de ces deux moules.

CROISSANCE *MYTILUS EDULIS* (LUC-sur-MER)

- 2e Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des Stades larvaires
27.1.1974	2	110	Larves D
4.2.1974	4	158	Véligères à Umbo
14.2.1974	14	239	Véligères oeillées
20.2.1974	26	260	Pédivéligères
28.2.1974	28	298	1° fixations
10.3.1974	38	314	
15.3.1974	43	316	Fixation massive
20.3.1974	50	321	

TABLEAU 4

CROISSANCE DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* (ESPAGNE)

- 2e Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des Stades larvaires
27.1.1974	2	110	Larves D
4.2.1974	10	126	
14.2.1974	20	141	
20.1.1974	26	149	
28.1.1974	28	160	Véligères Umbo
10.3.1974	38	180	
15.3.1974	43	199	
20.3.1974	50	209	
23.3.1974	53	231	Véligères oeuillées
27.3.1974	57	-	1 ^o fixations
1.4.1974	62	262	Fixation massive
10.4.1974	72	286	

TABLEAU 5

CROISSANCE DE *MYTILUS EDULIS* FEMELLE (LUC-sur-MER)
CROISE PAR *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* MALE (ESPAGNE)

- 2e Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des Stades larvaires
27.1.1974	2	110	Larves D
4.2.1974	4	158	
14.2.1974	14	202	Véligères
20.2.1974	26	211	
28.2.1974	28	230	
10.3.1974	38	250	Véligères à Umbo
15.3.1974	43	250	
20.3.1974	50	257	
23.3.1974	53	265	Pédivéligères
1.4.1974	62	289	1 ^o fixations
10.4.1974	72	302	Fixation massive
19.4.1974	79	336	

TABLEAU 6

CROISSANCE *MYTILUS EDULIS* MALE (LUC-sur-MER)
CROISE PAR *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* FEMELLE (ESPAGNE)

- 2e Série -

Date	Nombre de jours	Moyenne L en μ	Apparition des Stades larvaires
27.1.1974	2	110	Larves D
4.2.1974	4	129	
14.2.1974	14	148	Véligères à Umbo
20.2.1974	26	163	
28.2.1974	28	189	
10.3.1974	38	199	
15.3.1974	43	210	Véligères ocellées
20.3.1974	50	211	
23.3.1974	53	216	
1.4.1974	62	216	Pédivéligères
5.4.1974	66	230	1° fixations
10.4.1974	72	255	
19.4.1974	79	256	Fixation massive

TABLEAU 7

L'espèce, selon la définition classique donnée par MAYR (1963), "est un groupe de populations naturelles dont les individus sont réellement ou potentiellement capables de se reproduire entre eux, mais ne se reproduisent pas avec les individus d'autres groupes spécifiques dont ils demeurent sexuellement isolés".

Comme l'a souligné BOCQUET (1953) cette conception conduit à une "systématique des populations" et l'étude des populations naturelles du Crustacé Isopode Asellote *Jaera albifrons* a conduit cet auteur et ses collaborateurs grâce à l'emploi de méthodes morphologiques, biométriques et génétiques à montrer que cette super espèce englobait en réalité six espèces différentes ayant à peine dépassé le niveau spécifique.

L'étude de la morphologie et de la biologie de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* révèlent un certain nombre de caractères différentiels qui permettraient de justifier une séparation spécifique entre ces deux moules.

Le fait que *Mytilus edulis* et *galloprovincialis* peuvent s'hybrider montre que l'on ne peut encore se prononcer sur le problème de la séparation spécifique des deux moules. En effet, il apparaît que l'hybridation des deux moules est non seulement possible comme l'avaient déjà montré LUBET (1959) et SEED (1971) mais qu'elle conduit à des animaux viables. Plusieurs auteurs ont essayé déjà de croiser des espèces voisines de Pélécypodes. Souvent l'hybridation est possible mais seuls les premiers stades sont viables. DAVIS (1950) croise *Crassostrea virginica* et *Crassostrea gigas*, mais le nombre d'hybrides viables est moins important que le nombre de non-hybrides. Aucune larve de cet hybride n'atteint la métamorphose. IMAI et SAKAI (1961) montrent que les hybrides de *Crassostrea gigas* et *Crassostrea angulata* sont viables alors que ceux de *Crassostrea echinata* et de *Crassostrea virginica* ne le sont pas. LOOSANOFF (1954) croise *Mercenaria mercenaria* et *Mercenaria campechiensis* avec succès et obtient la métamorphose des hybrides.

Deux hypothèses peuvent être alors formulées :

- Les hybrides obtenus sont stériles. Les deux espèces existent vraiment mais ces espèces restent encore génétiquement assez proches l'une de l'autre et ont vraisemblablement à peine dépassé le niveau spécifique.

- Les hybrides obtenus sont fertiles. On peut penser que le phénomène de spéciation est en cours et que l'on a affaire à deux races d'une même espèce ou à deux formes ayant presque atteint le niveau spécifique.

Nous espérons pouvoir ultérieurement donner une réponse à ce problème lorsque les hybrides obtenus auront atteint leur maturité sexuelle.

La différence de vitesse de croissance notée entre les larves de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis* ne peut être retenue comme un caractère de différenciation spécifique. Cette vitesse s'est avérée très variable au cours des diverses expériences effectuées durant l'année. Cependant, les stades caractéristiques du développement larvaire des Mytilidés que nous avons définis sont toujours apparus pour des tailles plus faibles chez *Mytilus galloprovincialis*.

	\bar{L} lres fixations	\bar{L} Fixation massive
<i>Mytilus galloprovincialis</i> TAMARIS		
Fécondation du 1er novembre 1973	227	290
Fécondation du 15 janvier 1974	239	286
Fécondation du 15 janvier 1974 (bis)	243	278
<i>Mytilus galloprovincialis</i> CHERBOURG		
Fécondation du 19 mars 1974	217	269
<i>Mytilus galloprovincialis</i> ESPAGNE		
Fécondation du 25 janvier 1974	231	262
<i>Mytilus edulis</i>		
Fécondation du 15 janvier 1974	299	315
Fécondation du 25 janvier 1974	298	316

1e colonne : \bar{L} = moyenne des longueurs de toute la population à l'apparition des premières fixations.

2e colonne : \bar{L} = moyenne des longueurs de toute la population à la fixation massive (5 à 20 % de fixations selon les séries).

Cette moyenne ne représente pas la moyenne du stade.

Afin de vérifier si cette petite taille apparente était due à l'acclimation aux eaux locales nous avons élevé des larves de *Mytilus galloprovincialis* nées de géniteurs prélevés dans la rade de CHERBOURG. Il existe en effet à CHERBOURG une population de *Mytilus galloprovincialis* (LE GALL, 1969) limitée cependant à quelques individus épars sur le rocher. Ceci ne permet pas de nombreux prélèvements de géniteurs. Une seule ponte et une seule éjaculation ont pu être obtenues. La fécondation artificielle a fourni des larves viables, élevées dans les mêmes conditions que pour les séries précédentes. Si la croissance a été aussi rapide que pour *Mytilus edulis*, les stades caractéristiques sont apparus dans la population pour une moyenne voisine de celle des larves de *Mytilus galloprovincialis* méditerranéenne ou atlantique. (Pl. 13).

CROISSANCE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* - CHERBOURG

(fécondation 19 mars)

Date	Nombre de jours	Moyenne \bar{L} en μ	Apparition des Stades larvaires
1.4.1974	13	150	Larves D
4.4.1974	17	157	Véligères à Umbo
16.4.1974	29	217	1° fixations
19.4.1974	32	225	
25.4.1974	38	231	
7.5.1974	50	269	Fixation massive

Les plus petites larves fixées que nous ayons observées dans nos élevages mesurent 260 μ de long pour *Mytilus edulis* et 220 μ pour *Mytilus galloprovincialis*.

Les plus grandes larves nageuses observées mesurent 420 μ de long pour *Mytilus edulis* et 310 μ pour *Mytilus galloprovincialis*.

Les longueurs maxima des coquilles de larves de *Mytilus edulis* rapportées dans la bibliographie diffèrent de plus de 100 μ selon les auteurs (WERNER, 1934 ; JORGENSEN, 1944 ; SULLIVAN, 1948 ; LOOSANOFF et DAVIS, 1963 ; REES, 1950 ; BAYNE, 1965).

BAYNE (1965) explique cette différence de taille à la métamorphose par ce qu'il nomme le "délai de la métamorphose". Si la larve ne trouve pas le substrat approprié, elle est capable de retarder sa fixation de plusieurs semaines. Pendant cette phase sa croissance se ralentit. Selon BAYNE le stade de la Pédivéligère I est toujours atteint pour une longueur de 260 μ quelques soient les conditions d'élevage, quelque soit la provenance des géniteurs. La fixation a lieu pour des longueurs de coquille comprise entre 260 μ et 410 μ .

Or, nous avons obtenu des larves de *Mytilus galloprovincialis* de 220 μ fixées. Si le retard de la métamorphose influe sur la longueur ce sont les larves de *Mytilus galloprovincialis* qui devraient dans nos élevages être plus grandes puisqu'elles se sont métamorphosées après celles de *Mytilus edulis*.

Cette observation suggère deux hypothèses :

- l'invariabilité de la longueur de la Pédivéligère I est à remettre en question.
- *Mytilus galloprovincialis* est susceptible de se métamorphoser à une longueur de coquille plus faible que *Mytilus edulis*.

Le nombre d'élevage que nous avons effectué n'est pas assez important pour affirmer qu'il existe une différence de taille significative entre les stades larvaires de *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*. Une étude systématique de ce problème doit être envisagée en élevant des larves des deux espèces dans diverses stations. En dehors de ces différences de taille des lar-

ves au même stade nous n'avons pas observé de différences anatomiques apparentes entre les deux espèces.

Seule l'étude des charnières au microscope électronique à balayage en cours (LE PENNEC, inédit) permettra d'établir s'il existe une différence significative entre les deux espèces.

β Importance et rôle de l'ovocyte dans le développement larvaire.

PRIEUR (1974) observe que les larves de moules sont plus ou moins sensibles à des souches de bactéries pathogènes à différentes périodes de l'année. Il en conclut que le degré d'élaboration des gamètes joue un rôle primordial sur la défense des larves contre les attaques bactériennes.

Nos observations montrent que :

- certaines fécondations sont abortives, ou donnent naissance à des larves monstrueuses. C'est le cas notamment, lorsque les ovocytes émis sont en forme de poire, caractéristique d'une maturité inachevée.
- les larves présentent une importante variabilité de croissance. Les divers états physiologiques des ovocytes émis lors de la ponte forcée en sont vraisemblablement la cause.
- les hybrides se comportent comme les larves de la même espèce que celle des géniteurs femelles.

Il semble donc que l'état et la nature de l'ovocyte aient une importance primordiale sur le devenir de la larve.

L'étude de la maturation des géniteurs et de la qualité des ovocytes paraît fondamentale pour le développement de l'aquaculture.

CHAPITRE III

ORGANOGENESE, ANATOMIE ET FONCTIONNEMENT DU TRACTUS DIGESTIF LARVAIRE

A. MATERIELS ET METHODES.

1. *Observation in toto.*

Les larves surtout pendant les premiers stades du développement, sont transparentes. Des observations peuvent être effectuées au stéréomicroscope ou au microscope après fixation ou anesthésie.

2. *Techniques de fixation et d'inclusion.*

Les techniques d'histologie classique par fixation aux liquides de BOUIN, de CARNOY ou autres fixateurs, suivies d'une inclusion dans la gélose paraffine ne nous ont pas permis d'obtenir des coupes satisfaisantes. L'emploi de la paraffine entraîne des déformations considérables des tissus, surtout chez les jeunes stades.

Nous avons préféré utiliser les techniques d'inclusion pour microscopie électronique, dans l'epon. Néanmoins, ces techniques plus fines nous ont posé des problèmes du fait de la présence de la prodissoconque de 1 à 3 μ d'épaisseur (Pl.22, fig.A), protégeant la larve. Même avec des épons très durs, cette coquille ébrèche les couteaux en verre du microtome, ce qui entraîne la striation des coupes. Nous avons dû décalcifier en cours de fixation à l'aide

d'un agent chélateur l'E.D.T.A., selon les méthodes employées en odontologie.

Les larves, après anesthésie par le froid (4°C) sont fixées au glutaraldéhyde tamponné au caccodylate de sodium pendant 12 heures. L'anesthésie est indispensable car les larves se rétractent immédiatement entre les valves de leur coquille qui se ferment hermétiquement. La pénétration des produits au travers du périostracum (Pl.21, fig. A), devient alors difficile. Seule l'anesthésie par le froid a permis l'obtention de la relaxation tissulaire, tous les anesthésiques testés provoquent la fermeture des valves. Il faut veiller à ce que le refroidissement n'entraîne pas une congélation de l'eau de mer qui changerait l'osmolarité du milieu.

Après fixation, les larves sont rincées une nuit au tampon caccodylate / saccharose, puis décalcifiées pendant 10 à 12 H dans un mélange E.D.T.A. dissodique (Titriplex III MERCK) / tampon caccodylate à 4°C. Elles sont ensuite rincées une nuit et post-fixées au tétroxyde d'osmium à 1 % pendant 3 H. Après déshydratation, elles sont incluses dans l'épon par double inclusion pour être orientées.

Les coupes semi-fines sont pratiquées sur couteaux en verre à l'Ultra microtome de PORTER BLUM ou de REICHERT (L.K.B.).

Elles sont colorées au bleu de toluidine à 1 % dans le borate de sodium à 1 % ou au colorant de RICHARDSON.

3. Ultrastructure.

A part l'étude de CRANFIELD (1973) sur le pied de la larve d'*Ostrea edulis* en cours de métamorphose, il n'existe pas, à notre connaissance, de recherches sur l'ultrastructure des tissus des larves de Pélécypodes, ce qui nous a incité à entreprendre ce travail. Nous avons tenté d'obtenir des électronographies à partir de coupes extra-fines blanches ou jaunes effectuées sur les mêmes blocs que ceux employés pour les coupes semi-fines. Elles sont colorées à l'acétate d'uranyl, suivi d'un traitement au citrate de plomb selon REYNOLDS (1963). Nous n'avons, malheureusement, pas pu obtenir beaucoup d'images interprétables. Il semble que la décalcification altère l'ultrastructure de ces organismes embryonnaires dont les tissus présentent des différences de

densité importantes. Il apparaît de plus que la décalcification n'est jamais totale. Il reste toujours entre le périostracum et l'épithélium du manteau des grains qui ne se dissolvent pas et qui pourraient être de l'aragonite.

B. ORGANOGENESE DU TUBE DIGESTIF.

Dans le cadre de ce travail, nous avons porté nos efforts sur l'étude de l'anatomie du tractus digestif, l'organogénèse larvaire des Pélécypodes étant assez bien connue grâce aux travaux récents de ANSELL (1961) chez *Venus striatula*, CREEK (1960) chez *Cardium edule*, SASTRY (1965) chez *Aequipecten irradians concentricus*, BAYNE (1970) chez *Mytilus edulis*, HICKMAN et GRUFFYD (1970) chez *Ostrea edulis*. L'essentiel de ces travaux a été synthétisé par PRIEUR (1971).

1. Trochophore.

Le massif de cellules endodermiques se creuse. La cavité formée s'ouvre à l'extérieur, face ventrale, par la jonction avec l'invagination stomodéale réalisée au cours de la gastrulation (Pl. 30, fig. A). Cette ouverture orale est suivie du percement proctodéal, qui marque l'anus. Le tractus digestif n'est pas encore différencié, il présente une forme en U. Il n'y a pas de capture de nourriture.

2. Larve D. (Pl. 20, fig. A).

Tous les organes sont en place, l'oesophage, l'estomac avec une tige cristalline, la glande digestive, l'intestin et le rectum. Tous ces organes sont simples. Le tractus digestif devient fonctionnel en quelques heures. (48 H après la fécondation).

L'oesophage est court et droit, il débouche dans l'estomac à travers le tissu de la glande digestive.

La glande digestive est un simple sac de quelques cellules, largement ouvert sur le sac (ou diverticule) de la tige cristalline. Celle-ci est déjà formée et tourne sous l'action des cils de la paroi stomacale. Elle frotte contre un bouclier gastrique, (gastric-shield) des auteurs anglais. L'in-

testin est en prolongement de la cavité gastrique ; il est court, droit, il débouche dans le rectum au dessus du muscle adducteur postérieur.

C'est au cours du passage de la trochophore à la larve "D" que la fonction de nutrition est acquise, liée à la différenciation en moins de 12 heures de l'endoderme stomodéal en tissus spécialisés.

Un autre fait remarquable chez la larve D est la présence de nombreuses inclusions lipidiques dans tous les tissus au niveau du velum, de l'oesophage, de l'estomac, de l'intestin et de l'épithélium du manteau. La larve peut ainsi survivre pendant trois semaines, à jeûn dans une eau de mer stérile.

3. *Véligère*. (Pl.22, fig.A, B).

Au fur et à mesure du développement, les différentes régions du tractus digestif augmentent de taille. L'intestin s'allonge et se courbe en deux boucles. Il prend naissance sous forme d'une gouttière intestinale à la face ventrale de l'estomac, et non plus dans son prolongement. Cette dernière est largement ouverte sur la poche stomacale ; elle est délimitée par deux replis typhlosoliques. L'intestin fait une première boucle en arrière, vers l'estomac avec lequel il communique par une ouverture postérieure ou "chambre postérieure" (BAYNE, 1970) qui marque son abouchement initial au stade D. (Pl. 30, fig. B). L'intestin se sépare alors complètement de la paroi stomacale pour former une branche récurrente qui remonte sous la charnière au-delà de l'umbo. Une deuxième boucle ramène l'intestin vers l'arrière par sa branche directe parallèlement à sa branche récurrente, à droite de l'estomac, vers le rectum au-dessus du muscle adducteur postérieur. Ce dernier s'ouvre à l'extérieur par une papille annale ciliée.

L'oesophage s'allonge, il passe sous la plaque neurale du velum pour déboucher dans l'estomac à travers la glande digestive. Cette dernière augmente de volume. Elle reste impaire mais se trouve déjetée sur la gauche de l'estomac avec lequel elle communique par un large canal. On y distingue nettement deux types de cellules, la cellule digestive et la cellule sécrétrice. Au fur et à mesure du développement la glande digestive va former deux lobes ou poches. D'abord le lobe gauche puis du côté droit de l'estomac, le lobe

droit plus petit dans un premier temps. Ces deux lobes sont les ébauches des caeca droit et gauche de la glande digestive adulte.

4. *Métamorphose.*

Les modifications anatomiques qui atteignent la larve à la métamorphose sont considérables et ont été particulièrement bien étudiées par BAYNE (1970) (Pl.8, fig.A,B). Notre étude confirme et complète ces observations. A ce stade, la larve présente son niveau maximum d'organisation, un grand velum qui sert à la natation et à la nutrition, un pied qui lui permet de ramper pour chercher un substrat afin de se fixer. Un byssus est secrété par un complexe glandulaire déjà formé (Pl. 30, fig.D). On distingue des grosses cellules colorées en rose par le RICHARDSON, des cellules sécrétrices éparses dans le pied fortement colorables en pourpre, et quelques très petites cellules à grains très réfringents. (Pl.30, fig. D). Les premières cellules forment une glande impaire assez volumineuse à la partie proximale du pied. Cette glande correspond à la glande du collagène (PUJOL, 1967). Les cellules très chromophiles sont réparties dans toute la hauteur du pied, elles sont chargées de granulations qui paraissent être secrétées au moment de la fixation. Elles correspondent à la glande des phénols PYE FINCH (1945) BROWN (1952). Les dernières cellules observées, sont accolées à la glande du collagène et très peu nombreuses. Elles pourraient correspondre à la glande des enzymes (SMYTH, 1954). Ces trois glandes sont situées à la périphérie d'une cavité ciliée du pied, le sac ou la bourse byssogène dans laquelle elles se déversent pour former les filaments du byssus. BAYNE n'a observé que deux glandes (collagène et phénol) en plus du sac byssogène. Celui-ci est divisé en deux compartiments par un repli épithélial. Ils se prolongent par deux canaux ou filières et débouchent au niveau d'un coude à la face postérieure du pied dans un sillon ou gouttière pédieuse. La larve pédivéligère est capable de sécréter deux à cinq filaments de byssus en quelques secondes à n'importe quel moment, ceux-ci se terminent par un disque adhésif.

Il apparaît que toute une série de stimuli sont nécessaires pour provoquer la sécrétion des glandes. Le stimulus principal étant la rencontre d'un substrat adéquat, qui lève une inhibition de la sécrétion susceptible de durer plus de 50 jours. La larve de moule apparaît être un excellent matériel pour étudier les phénomènes de la sécrétion du byssus. C'est au moment de la

métamorphose qu'apparaissent les bourgeons branchiaux de part et d'autre du pied. Le système neurosensoriel se compose de trois paires de ganglions nerveux (cérébroïdes, viscéraux, pédieux) (Pl. 22, fig. B), une paire de statocytes et une paire de taches oculaires. A ce stade un massif de quelques cellules très colorables et ciliées se différencie sous les ganglions viscéraux. Selon BAYNE ce serait un osphradium. Nous n'avons pas observé, contrairement à cet auteur, de cavité rénopéricardique à ce stade.

Le tractus digestif n'a pas subi de modification par rapport au stade précédent.

La métamorphose va se manifester par le passage de la vie pélagique planctonique à la vie benthique sessile ou peu mobile.

D'un point de vue anatomique on observe la disparition du velum, la mise en place des palpes labiaux autour de la bouche. Les branchies deviennent fonctionnelles, ainsi que les palpes labiaux.

5. Jeune moule

La principale modification décelable au niveau du tractus digestif est une morphogénèse de tubules au niveau de la glande digestive, ce qui va rendre cet organe plus volumineux et complexe. Cette glande passe d'une structure en sac à une structure en grappe. Des canaux primaires ciliés et des canaux secondaires à bordure en brosse bourgeonnent à partir des caeca droit et gauche (OWEN, 1955). Ils se terminent en cul-de-sac dans les tubules constitués de cellules digestives et de cellules sécrétrices (Pl. 29, fig. A). La glande digestive est noyée dans un feutrage de tissus conjonctif et fibres musculaires.

C. HISTOLOGIE ET CYTOLOGIE.

1. Velum. (Pl. 24).

Nous avons inclus l'étude du velum dans ce travail car en plus de sa fonction locomotrice c'est aussi un organe de capture des particules.

L'épithélium est de type colonnaire et ciliaire. Les cils sont les plus longs au niveau du bourrelet velaire, ils sont comparables aux "tractelles" des protozoaires ; ils permettent à la larve de nager. Ils sont plus petits sur la gouttière velaire. Ils traversent un tapis fibrillaire joignant la tête des microvillosités nombreuses et sont insérés par des racines profondes dans chaque cellule. Celles-ci sont relativement grandes (7 à 12 μ) et présentent un cytoplasme fibrillogranulaire contenant de nombreux granules fortement colorés par le bleu de toluidine et très denses aux électrons. Le noyau est basal, sphérique et volumineux. Certaines cellules ont un cytoplasme plus chromophile que d'autres, ce qui laisserait supposer l'existence de deux types au moins de cellules ou de plusieurs états physiologiques d'un même type cellulaire. En électronique, on observe des sécrétions de type muqueux, ce mucus peut être mis en évidence in vivo par l'emploi de graphite colloïdal.

Les cellules du plateau velaire sont plus petites et dépourvues de cils, mais couvertes d'une bordure en brosse constituée par des microvillosités. (Pl. 25, fig. B). Au centre du plateau se trouve une dépression d'où émerge le flagellum. Les cellules portant le flagellum sont très chromophiles et en étroite relation avec la plaque neurale, ensemble des neuroblastes du ganglion cérébroïde (Pl. 20, fig. B).

Sous l'épithélium velaire sont insérées les terminaisons des trois paires de muscles rétracteurs du velum. (Pl. 25, fig. B).

Au moment de la métamorphose, le velum dégénère. (Pl. 23, fig. C), (Pl. 24, fig. B). Les cellules se nécrosent, les cils tombent. Il semble que l'épithélium velaire des larves de mollusques marins soit très fragile et labile. Une agression chimique, thermique ou microbienne atteint toujours en premier les cellules de l'épithélium qui se détachent du velum. Nous n'avons pas observé d'invasion massive d'amœbocytes nettoyant les cellules de l'épithélium velaire comme l'ont décrit COLE (1938) et BAYNE (1970).

La désintégration du velum entraîne un vide dans la cavité palléale de la jeune moule progressivement comblé par la mise en place de la bouche et des palpes labiaux. Chez la véligère la bouche est un orifice entouré par le palpe oral et situé sur le bord postérieur du bourrelet velaire.

Au cours de la métamorphose, les tissus velaires de ce bord postérieur du bourrelet ne se désintègrent pas, mais se réorganisent en palpe labial supérieur. Le palpe oral se transforme en palpe labial inférieur. Chacun des palpes se scinde en deux langues de tissus qui forment les deux palpes labiaux supérieurs et les deux palpes labiaux inférieurs qui entourent la bouche de l'adulte.

2. *L'oesophage.*

C'est un tube constitué d'un épithélium simple à cellules colonnaires ($5\ \mu$) au cytoplasme fibrillaire avec un noyau ovoïde en position basale. Cet épithélium est cilié, les cils forment un entonnoir plongeant dans la cavité stomacale au niveau d'une constriction oesophagienne. (Pl. 20, fig. B). On distingue très nettement sur coupe semi-fine une bordure en brosse. Ces cellules présentent des affinités tinctoriales variables. Elles ressemblent en tout point aux cellules de l'épithélium velaire.

Chez la larve "D", l'épithélium oesophagien est chargé en globules lipidiques qui disparaissent chez la larve plus âgée.

3. *L'estomac.*

L'estomac des Pélécypodes est plus particulièrement appelé intestin gastrique. Il est formé de deux parties : le diverticule du sac de la tige cristalline (Pl. 23, fig. B) et l'intestin moyen. Les deux invaginations sont séparées par les deux replis typhlosoliques (Pl. 23, fig. C), chez certaines espèces, les typhlosoles sont jointifs, séparant la lumière de l'intestin de celle du sac de la tige cristalline. Chez la moule et chez sa larve les deux lumières sont en communication, les déchets tombent dans la gouttière intestinale pour être évacués par les mouvements ciliaires intestinaux.

L'épithélium du sac de la tige cristalline est constitué de cellules ciliées pavimenteuses recouvertes d'une bordure en brosse de microvillosités. Les cils sont nombreux et serrés ; leurs mouvements synchrones font tourner la tige cristalline et la poussent contre le bouclier gastrique (Pl. 30, fig. B).

Ces cellules sont très chargées en inclusions lipidiques. Chez l'adulte, GIUSTI (1970) décrit de petites cellules à mucus insérées entre les cellules ciliées. Nous n'avons pas pu les mettre en évidence chez la larve.

Les cellules des typhlosoles sont plus hautes, le noyau est riche en chromatine, la surface apicale couverte par une bordure en brosse et par de nombreux cils. Le cytoplasme est très chromophile. GIUSTI (1970) a montré chez l'adulte que la tige cristalline était secrétée par les cellules des typhlosoles et non par les cellules du sac.

La tige cristalline chez l'adulte est constituée de structures lamellaires concentriques de mucopolysaccharide autour d'un noyau axial. Chez la larve, seul le noyau axial existe. Sur certaines coupes histologiques, la tige cristalline est très vacuolisée (Pl. 30, fig. B), parfois très réduite. Chez les larves à jeûn, elle reste entière.

Le bouclier gastrique est très nettement visible au plafond et sur les côtés de la paroi stomacale. (Pl. 30, fig. B). Mc QUISTON (1970) a montré chez *Lasea rubra* adulte que le bouclier est un feutrage de microvillosités serrées dans une matrice d'éléments fins granuleux ou fibreux. Chez la larve de moule ce bouclier forme un crochet dans la lumière stomacale qui sert à retenir la tige cristalline appendue au plafond de l'estomac et à retenir le bol alimentaire autour de cette tige.

4. La glande digestive.

La glande digestive des Pélécy-podes a longtemps été considérée comme un organe de digestion et d'absorption intra-cellulaire (YONGE, 1955 ; SUMNER 1966 ; MORTON, 1969, 1970) cependant MANSOUR (1946), MANSOUR et ZAKI (1946) lui attribuent un rôle sécréteur.

Sa structure tubulaire a été décrite par YONGE (1926). Pour cet auteur, l'épithélium de la glande digestive est constitué d'un seul type cellulaire, la cellule digestive, provenant de cellules mères très colorables situées dans les cryptes tubulaires, leur remplacement est constant. OWEN (1955, 1956) montre que ces cellules chromophiles ("cellules mères" de YONGE) sont flagellées et présentent un cycle sécrétoire, elles constitueraient donc

une lignée cellulaire différente des cellules digestives. SUMNER (1966) au cours d'une étude histochimique et ultrastructurale décrit deux types de cellules chez *Anadonta anatina*, la cellule digestive et la cellule sécrétrice. OWEN (1970) chez *Cardium edule* précise l'ultrastructure de ces deux types cellulaires ainsi que leur fonction. PAL (1972) retrouve ces structures chez *Mya arenaria*. Dans un travail récent THOMPSON, RATCLIFFE et BAYNE (1974) décrivent les modifications histologiques et ultrastructurales de la glande digestive des moules adultes maintenues au Laboratoire.

A la lumière de ces travaux, il apparaît que la glande digestive des Pélécypodes adultes est constituée de deux types cellulaires :

- La cellule digestive (Pl. 9, fig. C). En forme de colonne, elle présente une bordure en brosse à microvillosités, un cytoplasme envahi par des vacuoles de plusieurs types, 4 selon OWEN et PAL, 2 selon SUMNER, THOMPSON, RATCLIFFE et BAYNE. Le noyau est en position basale.
- La cellule sécrétrice (Pl. 9, fig. A). De forme pyramidale, elle est caractérisée par un reticulum endoplasmique très développé, un appareil de GOLGI émettant des grains de sécrétion accumulant des protéines, vraisemblablement enzymatiques. Ces cellules sont situées dans les cryptes tubulaires de la glande et sont très chromophiles. Divers états de la cellule sécrétrice ont été décrits. OWEN (1970) distingue la cellule sécrétrice typique et une cellule sécrétrice jeune, flagellée, cellule mère selon lui des deux types cellulaires décrits. THOMPSON, RATCLIFFE et BAYNE (1974) distinguent deux types de cellules sécrétrices, la "basiphil cell" et la "flagellate cell". Ces cellules ne sont pas différenciables en microscopie photonique. En microscopie électronique la "flagellate cell" présente un reticulum endoplasmique moins développé que la "basiphil cell" et un ou plusieurs flagelles apicaux. Ces auteurs émettent l'hypothèse d'une filiation entre la "flagellate cell" et la cellule digestive.

Chez la larve de moule nous avons retrouvé ces deux types cellulaires (digestif et sécréteur) 48 heures après la fécondation dès le stade "D".

Sur coupe semi-fine nous avons observé :

- des cellules très chromophiles, pyramidales, avec un grand noyau ovale, basal. Elles possèdent une membrane plasmique apicale portant des micro-villosités. Nous n'avons pas pu déterminer si elles étaient flagellées. Ces cellules sont très peu nombreuses (4 ou 5) et petites (5 à 7 μ de haut). Elles sont intercallées entre les cellules digestives et à leur base. Cette cellule rappelle par sa morphologie la cellule sécrétrice définie par OWEN (1970) dans la glande digestive de *Cardium edule*.
- des cellules très vacuolées, columnaires, de 5 à 15 μ de haut. Ce sont les plus grandes cellules visibles dans une larve. Le noyau est basal et comprimé par de nombreuses vacuoles. Sur coupes semi-fines nous avons observé deux types de vacuoles, des vacuoles de petite taille, de position basale présentant du matériel dense concentré à la périphérie vacuolaire et fortement métachromatique dans les rouges à la coloration de RICHARDSON (Pl. 28, fig. D), des vacuoles plus grandes, de formes variables contenant du matériel fibrillogranulaire épars (Pl. 28, fig. D). Ces dernières sont concentrées au sommet de la cellule.

La cellule digestive chez la larve est caractérisée par un ou deux globules lipidiques, en position basale (Pl. 28, fig. D). Ces inclusions lipidiques peuvent occuper le quart ou le tiers du volume cellulaire. Chez l'adulte les globules lipidiques sont plus petits et plus nombreux, disséminés dans la cellule. (Pl. 29, fig. C).

Chez la larve D qui n'a jamais été nourrie depuis la fécondation on observe seulement de petites vacuoles et quelques globules lipidiques de réserves (Pl. 20, fig. B). Les macrovacuoles et les gros globules lipidiques ne sont visibles que chez les larves nourries (Pl. 23, fig. A). Ces macrovacuoles semblent confluer les unes vers les autres pour former des plages apicales qui se détachent dans la lumière de la glande pour se mélanger au bol alimentaire. (Possibilité d'apport d'enzymes).

Les inclusions lipidiques de la cellule digestives semblent engagées dans des processus d'exocytose basale (Pl. 28, fig. D). Nous avons observé certaines de ces inclusions se déversant à l'extérieur de la glande. Sur certaines coupes les produits lipidiques sont repris par des cellules de

type amœbocytaire (très peu nombreuses) accolées à la glande digestive. (Pl. 28, fig. D). Il n'y a pas de tissus d'emballage autour de la glande digestive, pas plus qu'autour des autres organes, chez la larve. Les échanges métaboliques et énergétiques se font probablement essentiellement par diffusion dans le liquide interstitiel des produits libérés par l'exocytose basale des cellules digestives.

L'étude de la cellule digestive au microscope électronique nous a permis d'observer que les vacuoles digestives chez la larve de moule étaient de quatre types (Pl. 27, fig. A, B).

- type a : au sommet de la cellule, de taille variable ($0,5 \mu$ à $1,5 \mu$) contenant peu de matériel.
- type b : en position moyenne, de 2 à 3μ , contenant un matériel très peu dense aux électrons, mais uniformément réparti. Ces vacuoles sont parfois confluentes par de grandes surfaces ou par des ponts membranés.
- type c : réparties sur toute la hauteur de la cellule, mais le plus souvent sous les vacuoles de type b. Elles mesurent $1,5$ à 2μ de diamètre. Elles contiennent un matériel hétérogène réparti à la périphérie vacuolaire. Elles présentent une couche de matériel fibrillaire ténue accolée à la membrane.
- type d : en position basale, contenant un matériel microtubulaire de densité très variable. Elles mesurent de $1,5$ à 2μ . Elles sont le plus souvent accolées aux inclusions lipidiques basales et sont entourées de deux membranes séparées par un espace de $0,1 \mu$.

Les autres constituants cellulaires sont de nombreuses mitochondries réparties sur toute la hauteur de la cellule, plus particulièrement sur les côtés, un reticulum endoplasmique épars et des appareils de GOLGI situé à proximité des vacuoles de type C et D.

A sa partie apicale, la cellule est truffée de microvacuoles de $0,1$ à 1μ qui semblent converger pour former les vacuoles de type a. La surface apicale est couverte de microvillosités.

La structure de la cellule digestive de la larve de moule est tout à fait comparable à celle de la cellule digestive du *Cardium edule* décrite par OWEN (1970).

Nous avons également étudié la glande digestive de jeune moule de 3 mm. Celle-ci présente alors une structure tubulaire. La cellule digestive présente quatre types de vacuoles comme chez la larve et non pas deux selon THOMPSON, RATCLIFFE et BAYNE (1974). La différence avec la larve vient du nombre et de la forme des inclusions lipidiques plus petites, plus nombreuses et plus éparses chez la jeune moule.

Nous n'avons pas pu observer de cellule sécrétrice en microscopie électronique chez la larve. Par contre, chez la jeune moule nous avons retrouvé les deux types de cellules sécrétrices décrits récemment par THOMPSON, RATCLIFFE et BAYNE (1974) (Pl. 29, fig. B). Nous avons par ailleurs, de petites cellules de 2 à 5 μ de haut, à fort rapport nucléoplasmique qui pourraient correspondre à de jeunes cellules mères indifférenciées (Pl. 27, fig. B).

5. Intestin et rectum.

Les cellules de l'épithélium intestinal sont très basses (1 à 3 μ) (Pl. 28, fig. B). Elles portent de nombreux cils qui acheminent les fèces vers l'anus. Chez certaines larves, ces cellules sont très chargées en microinclusions lipidiques, alors que chez d'autres ces gouttelettes sont absentes. Ceci laisse supposer une activité digestive au niveau de l'épithélium intestinal. Ces observations sont en contradictions avec celles de GIUSTI (1970) chez la moule adulte. Cet auteur décrit deux types de cellules intestinales ; des cellules muqueuses et des cellules ciliées sécrétant une substance de nature protéique. Il n'observe aucune activité digestive dans cette partie du tractus digestif.

6. Cellules de type amoébo cytaire. Cellules mésenchymateuses.

Chez les jeunes stades larvaires, il y a très peu de cellules solitaires dans les espaces interstitiels (Pl. 30, fig. C). On observe des cellules accolées à l'épithélium du manteau. On les retrouve groupées autour

de l'intestin à la métamorphose. Elles sembleraient être à l'origine du tissu rénopéricardique.

Des cellules de type amœbocytaires, très petites (1 à 3 μ) apparaissent en faible quantité à la métamorphose. Certaines sont accolées à la glande digestive et se chargent en lipides (Pl. 28, fig. D). D'autres s'insinuent entre les feuillets des lobes du manteau. Ces cellules sont vraisemblablement à l'origine du tissu conjonctif selon HERLIN-HOUTTEVILLE (1974), YONGE (1926), MARTOJA (1964) leur attribuent un rôle dans la digestion. Elles seraient capables de s'insinuer entre les cellules de l'épithélium digestif pour phagocyter les petites particules nutritives. Nous n'avons pas observé un tel phénomène chez la larve de moule.

D. ESSAIS DE RECHERCHES ENZYMATIQUES.

1. Principe.

Les méthodes de mise en évidence d'activités enzymatiques traditionnelles sont difficilement applicables aux larves de Pélécypodes. Ces techniques histochimiques ou biochimiques ne permettent de révéler ou de mesurer qu'une seule activité enzymatique à la fois, sur des quantités assez importantes de tissus, incompatibles avec notre matériel.

Nous avons employé une microméthode d'analyse mise au point par PLANTEVIN et NARDON (1972) sur les tissus d'insectes. Cette méthode permet de réaliser des observations préliminaires à partir de quelques centaines de larves. Il est possible de révéler plusieurs activités à la fois, ainsi que d'apprécier divers degrés d'intensité des réactions observées.

Le principe consiste à hydrolyser un substrat par son enzyme spécifique contenue dans le broyat de tissus à analyser et de révéler par une réaction colorée.

2. Matériel et méthode.

Le dispositif consiste en une bande de papier spécial incluse entre deux feuilles de matière plastique. La feuille inférieure est blanche et opaque, la supérieure est transparente. La soudure des deux bandes de plastique à travers le papier détermine la formation de capillaires plats de 0,4 ml de volume. Il peut être rempli grâce à deux orifices ouverts à chaque extrémité. L'ensemble de dix capillaires représente une plaquette de 55 mm X 160 mm.

En ce qui concerne les activités 1 à 20 nous avons utilisé des plaquettes prêtes à l'emploi fournies par l'Institut National des Sciences Appliquées de LYON. Pour les activités 21 et 22, nous avons utilisé des plaquettes vierges que nous avons préparées.

Les substrats d'enzymes sont répartis à la micropipette de précision, en solution dans le méthanol. Les quantités de substrat utilisées sont reportées dans le tableau 8.

Les plaquettes sont conservées au froid. Après 24 heures, le méthanol est évaporé.

Les tissus à étudier sont disloqués aux ultra-sons dans 2 ml de tampon HCl à pH 7,5 pour les activités 1 à 14 et 21, à pH 7 pour 20 et à pH 5,4, tampon citrate, pour 17 à 19.

200 à 300 larves suffisent pour détecter toutes les activités. Des morceaux de glande digestive et de tige cristalline de moule adulte ont été traitées de la même façon, après dissection dans l'eau de mer et rinçage.

Le broyat est réparti à la pipette pasteur dans les capillaires. Les plaquettes sont incubées à 30° pendant 12 à 18 heures dans une enceinte saturée en vapeurs d'eau. (1). Les substrats sont relévés par une solution de diazoblué à 1/2.000 pour les activités 1 à 19, par la solution de Lugol pour 20 et par la Phénolsulfanephtaléïne à 0,04 % ou le thymol-sulfanephtaléïne à 0,04 % pour 21.

(1) Nous remercions MM. NARDON et PLANTEVIN pour nous avoir permis d'utiliser leur microméthode d'analyse et pour nous avoir fournis des plaquettes.

DETECTION DES ACTIVITES ENZYMOLOGIQUES A L'AIDE D'UNE MICROMETHODE

Nos	Substrats	%	Quantité	Enzymes
1	Naphtyl phosphate	1%	50 μ l	Phosphatases alcalines
2	β Naphtyl acétate	1%	30 μ l	Aliestérases
3	β Naphtyl butyrate	1%	20 μ l	Lipases
4	β Naphtyl laurate	1%	30 μ l	
5	β Naphtyl palmitate	1%	30 μ l	
6	β Naphtyl stéarate	1%	40 μ l	
7	β Naphtyl nonanoate	1%	30 μ l	
8	β Naphtyl myristate	1%	30 μ l	
9	β Naphtyl caprylate	1%	40 μ l	
10	DL Alanyl β naphthylamide	1%	30 μ l	Aminopeptidases
11	L Leucyl β naphthylamide	1%	30 μ l	
12	Valine β naphthylamide	1%	30 μ l	
13	N Benzoil DL arginine β naphthylamide	1%	30 μ l	Trypsine
14	N " phénylalanine	1%	30 μ l	Chymotrypsine
15-6	Bromo 2 naphtol β D galactopyranoside	1%	50 μ l	Galactosidase
16	Naphtol ASBI β D glucosaminide	1%	20 μ l	Glucosaminidase
17	" " glucuronide	1%	40 μ l	Glucuronidase
18-6	Bromo 2 naphtyl β D glucopyranoside	1%	40 μ l	Glucosidase
19	Naphtyl acide phosphate	1%	50 μ l	Phosphatases acides
20	Amidon Sigma		50 μ l	Amylase
21	Carboxy méthyl cellulose		50 μ l	Cellulose
22	Témoin			

TABEAU 8

Pour la recherche des amylases des témoins à la salive et des destructions par la chaleur ont été effectuées. Les détections ont été triplées.

3. Résultats et discussion.

Dès l'ovocyte toutes les activités enzymatiques testées sont en place à l'exception des enzymes lipolitiques (laurate, palmitate, myristate) qui se développent après la métamorphose, et à l'exception de l'amylase qui se développe en cours de vie pélagique. (Tableau n° 9).

La richesse enzymatique de l'ovocyte permet de comprendre la différenciation précoce des tissus du tractus digestif et son fonctionnement 48 heures après la fécondation.

L'amylase qui n'est décelable que 8 jours après la fécondation pourrait correspondre à une enzyme adaptative résultant de la nutrition à base de phytoplancton riche en amidon.

Cette méthode ne nous a pas permis de déceler la cellulase bien que cette enzyme ait été mise en évidence chez la moule par NEWELL (1953).

Nous avons recherché avec cette méthode une éventuelle activité cyclique enzymatique en incubant toutes les deux heures pendant 24 heures des broyats de 200 larves provenant d'un même élevage. Ces larves étaient à jeun depuis trois jours précédant l'expérience. Elles ont été nourries à la 4e heure de l'expérience.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de variation d'intensités colorimétriques des substrats révélés. Il ne semble pas qu'il y ait d'activité cyclique enzymatique chez la larve.

Substrats	Ovocyte Gas- non trule fécondé		Larve 48h.	Larve 8j.	Larve méta- morph.	HP	TC
						adulte	
1 Naphtyl phosphate	+	+	+	+	+	+	+
2 " acétate	+	+	+	+	+	+	+
3 " butyrate	+	+	+	+	+	+	+
4 " laurate	-	-	-	-	-	+	+
5 " palmitate	-	-	-	-	-	+	+
6 " stéarate	-	-	-	-	-	-	-
7 " nonanoate	+	+	+	+	+	+	+
8 " myristate	-	-	-	-	-	?	+
9 " caprilate	+	+	+	+	+	+	+
10 DL Alanyl naphthylamide	+	+	+	+	+	+	+
11 L Leucyl "	+	+	+	+	+	+	+
12 Valine "	+	+	+	+	+	+	+
13 N Benzoil DL arginine "	-	-	-	-	-	-	-
14 " phénylalanine "	+	+	+	+	+	+	-
15-6 Bromo D naphtol D galactopyrano- side	+	+	+	+	+	+	-
16 Naphtol ASBI D glucosaminide	+	+	+	+	+	+	+
17 " " glucoronide	+	+	+	+	+	+	+
18-6 Bromo 2 naphtyl D glucopyranoside	+	+	+	+	+	+	+
19 Naphtyl acide phosphate	+	+	+	+	+	+	+
20 Amidon	-	-	-	+	+	+	+
21 Carboxy méthyl cellulose	-	-	-	-	?	?	?
22 Témoin	-	-	-	-	-	-	-

TABLEAU 9

E. PRISE DE NOURRITURE.

1. Capture.

Les auteurs considèrent que ce sont les cils velaïres qui captent et dirigent les particules vers la bouche.

L'emploi de suspensions concentrées de petites algues unicellulaires, *Chlorelles*, ou du graphite colloïdal (aquadag) nous a permis d'observer les phénomènes de capture et de tri des particules par la larve.

La capture est due aux mouvements des grands cils du velum. Ils créent des courants d'eau sous forme d'ondes qui arrivent sur la gouttière vélaire. Les particules sont alors engluées dans un film muqueux qui se déroule sous l'action des battements des cils de la gouttière vers la bouche.

Le tapis du mucus et de particules est dirigé par les cils oraux dans la lumière de l'oesophage. Ce boudin muqueux s'enroule autour de l'extrémité distale de la tige cristalline qui dissocie les particules ou les sépare du mucus en les mélangeant au contenu stomacal.

Si la larve est en état de réplétion stomacale, le cordon muqueux est écarté de chaque côté du palpe oral. La larve traîne un filament muqueux qui se rompt sous la charge.

Très souvent, on observe des chapelets de larves qui tournent en nageant dans les élevages. La larve de tête est locomotrice. La larve attelée est colée par son velum chargé en mucus à la coquille de la larve précédente.

2. Tri des particules.

Très peu de travaux concernent le choix des particules par les larves. LOOSANOFF et al (1953) trouvent chez *Mercenaria mercenaria* une sélection qualitative et quantitative de la nourriture. Les larves nourries avec un mélange de *Porphyridium* (3 μ) et *Chlamydomonas* (10 μ) rejettent les premiers pour seulement ingérer les seconds.

Toutes les particules que nous avons testées chez *Mytilus galloprovincialis*, inférieures à 10 μ , ont été ingérées par la larve. Des mélanges de globules rouges/tetraselmis ou de monochrysis (marrons) / tetraselmis (verts) n'ont pas permis de mettre en évidence une sélection. La glande digestive prend immédiatement après l'ingestion un aspect mosaïque bicolore qui devient unicolore après quelques minutes par le mélange des pigments.

L'hypothèse du "tri particulaire" suppose la présence de chémorep-
teurs velaires ou oraux et elle est en contradiction avec l'aspect mécanique
de la capture que nous avons observé.

La seule sélection que nous ayons observée est un calibrage des
particules en relation avec le diamètre de la bouche.

3. Problèmes des éléments dissous.

Les travaux effectués par PEQUIGNAT (1973), ont montré que les
moules adultes concentraient, absorbaient et utilisaient les acides aminés
dissous dans l'eau de mer.

Au cours d'une manipulation, nous avons observé que les larves de
moules concentraient activement de la leucine tritiée (Pl. 14 fig. A).

Une étude en microscopie électronique nous a montré que les
jeunes véligères absorbaient par les épithéliums de surface de la ferritine
en suspension dans l'eau de mer. (Pl. 26, fig. B).

Le phénomène observé chez les adultes semble exister chez les
larves.

4. Taux de filtration.

Si les travaux concernant la filtration des bivalves adultes sont
abondants et souvent contradictoires ceux concernant les larves sont beaucoup
moins nombreux.

JORGENSEN (1943), WALNE (1956) ont estimé que le taux de filtration
des larves d'*Ostrea edulis* variait entre 0,43 et 0,65 ml/larve/jour.

WALNE a calculé une capture de 395-600 cellules/larve/heure pour *Ostrea edulis* de 178 μ de long et de 916-1517 c/l/h pour une longueur de 219 μ . Cet auteur estime que 13 à 45 % de la nourriture est assimilée. GABBOTT et HOLLAND (1973) utilisant une microméthode d'analyse biochimique pour évaluer les bilans énergétiques trouvent que 50 à 80 % de la nourriture sont utilisés.

BAYNE (1965) a décelé chez *Mytilus edulis* une augmentation du taux de filtration proportionnelle à la croissance et à l'élévation de température. Mais ce taux est indépendant, pour une taille donnée, de la concentration en algues. Il varie de 0,1 à 0,6 ml/l/j.

Nous avons observé que la filtration semble continue, mais son intensité est très variable. Une larve maintenue à jeun pendant plusieurs jours, puis nourrit, emplit son estomac en quelques secondes, la nourriture est accumulée jusqu'à l'anus : c'est la phase de réplétion. On observe ensuite, un ralentissement des mouvements ciliaires, velaires et stomacaux. Les particules sont rejetées par le palpe oral dans le cordon muqueux. Lorsque la digestion a commencé, de nouvelles particules sont ingérées. L'alimentation est alors continue et régulée par la vitesse de digestion. Celle-ci peut être appréciée par le calcul du temps de défécation qui varie de 5 à 20 mn après l'ingestion.

MAPSTONE (1970) établit une relation entre le temps de défécation et la digestibilité d'un aliment chez la larve de *Nassarius reticulatus*. Cet auteur montre que les particules de faible valeur nutritive sont très vite rejetées par le tube digestif alors que l'ingestion d'algues unicellulaires est suivie par une défécation plus tardive. Il existe donc pour ce fourrage une rétention stomacale plus longue.

5. Mouvements du bol alimentaire.

a) Fonctionnement de la tige cristalline.

Chez la larve d'*Ostrea edulis*, MILLAR (1955) observe une rotation de 80 tours par minute.

Chez la larve de *Mytilus galloprovincialis* nous avons constaté que le nombre de tours est très variable, parfois nul, ce qui peut correspondre à

la phase de dissolution du stylet. Le plus souvent le nombre de tours varie de 20 à 50 par minute.

La rotation du stylet brasse le contenu stomacal en mélangeant le bol alimentaire avec les produits d'excrétions de la glande digestive et avec les enzymes qu'elle libère. Cette rotation contre le bouclier gastrique provoque l'éclatement des cellules végétales, délaminant la paroi cellulosique en lanières qui sont enroulées en pelotes, éliminées dans les fèces (Pl.28, fig. C).

b) Contractions au niveau de la glande digestive.

Chez la jeune larve nous n'avons pas observé de contractions autonomes de la glande digestive qui ne présente pas de structures musculaires propres. Mais la larve est souvent animée de contractions spasmodiques qui font se rétracter le velum entre les valves, ce qui a pour effet de presser la glande digestive et de permettre au bol alimentaire d'aller et venir entre l'estomac et la glande.

Par contre, après la métamorphose nous avons observé des contractions rythmiques de la glande digestive qui font passer le bol alimentaire successivement de la poche stomacale dans chacun des deux lobes de la glande digestive. MILLAR (1955) a observé ce type de contractions chez la larve d'*Ostrea edulis*, par contre BAYNE ne les a pas décelées chez *Mytilus edulis*. Ces contractions sont à mettre en relation avec le développement d'un faisceau de fibres musculaires autour de la glande digestive après la métamorphose. (Pl.29, fig B)

F. DISCUSSION.

Cette étude sommaire sur le comportement alimentaire de la larve sur l'anatomie et la cytologie de l'appareil digestif ainsi que sur les potentialités enzymatiques de la larve de moule montre que dès les premiers jours de son développement, elle possède un appareil digestif assez comparable à celui de l'adulte, mais miniaturisé, capable de performances enzymatiques très voisines.

La capture des particules, qui chez l'adulte est le fait des mouvements ciliaires des branchies et des palpes labiaux est due chez la larve aux courants provoqués par les cils du velum et du palpe oral. Les particules adhèrent à un film muqueux produit par la gouttière ciliaire. Ce film est ingurgité par la bouche ou bien rejeté par le palpe oral selon l'état de répletion du tractus. La capture apparaît donc être essentiellement un phénomène mécanique laissant supposer la possibilité d'ingestion de divers types de particules (algues ou agrégats de matières organiques). Le facteur limitant est le calibrage des particules conditionné par le diamètre de la bouche.

L'aspect mécanique de la digestion consiste en une trituration due à l'action combinée de la tige cristalline et du bouclier gastrique du bol alimentaire qui est dissocié et mélangé aux enzymes. La présence de cellules digestives vacuolisées et de cellules sécrétrices laissent supposer une activité de la glande digestive comparable à celle observée chez les Pélécypodes adultes. La digestion consiste en une absorption par pinocytose des produits broyés et hydrolysés dans la lumière stomacale. Les nutriments sont digérés par voie intracellulaire dans des vacuoles digestives. Cette digestion se manifeste par la formation d'un globule lipidique qui semble s'évacuer par exocytose basale dans le milieu intérieur de la larve ou bien être repris par des amoebocytes. Une forte absorption semble aussi avoir lieu au niveau de l'intestin qui se charge en globule lipidique. Les déchets intracellulaires semblent rejetés par désintégration de la cellule digestive. Les vacuoles digestives libérées sont ainsi mélangées au bol alimentaire et doivent participer à la digestion extracellulaire en complétant l'action des enzymes de la tige cristalline et des cellules sécrétrices (OWEN, 1970 - PAL, 1972). L'ultrastructure des cellules sécrétrices n'a pu être abordée. La petite taille et le faible nombre de ces cellules ne permet pas de leur attribuer un rôle important dans la sécrétion d'enzymes chez la larve.

OWEN (1972) attribue une fonction hétérophagique à la cellule digestive. Selon cet auteur les vacuoles sont des phagosomes et des lysosomes. Cependant le rôle de chaque vacuole, la dynamique de fonctionnement n'ont pas été démontrés. D'autre part, le destin des produits hydrolysés, le "turn-over" et la filiation cellulaire, le rapport entre cellules sécrétrices et cellules digestives restent encore à préciser.

Il apparaît donc que la larve de moule ainsi que la post-larve constituent un matériel intéressant pour étudier ces phénomènes de la digestion chez les Pélécypodes.

CHAPITRE IV

LE REGIME ALIMENTAIRE DES LARVES - NUTRITION ARTIFICIELLE

A. INTRODUCTION.

Les Pélécypodes sont des mollusques filtrants, microphages se nourrissant essentiellement de particules en suspension dans l'eau de mer. En fait, on ne sait toujours pas, après plus d'un siècle de recherche, quel est exactement le régime alimentaire des mollusques, malgré les nombreux travaux qui y ont été consacrés. RAIMBAULT en a effectué la revue en 1966. On peut encore accepter la confession de GALTSOFF (1942) à propos des huîtres : "At present we must confess our ignorance of the principles of mollusk nutrition and consequently our inability to suggest a practical solution of the problem of forced feeding and production of fat oysters at will".

L'intérêt économique que représente une production industrielle de naissain de bivalves comestibles a conduit de nombreux chercheurs à s'intéresser à la mise au point de régimes alimentaires pour élever artificiellement des mollusques et améliorer la qualité marchande des produits. Cependant aucun aliment de synthèse n'a pu être mis au point.

Les particules susceptibles d'être capturées par les Pélécypodes ou par leurs larves doivent répondre à une exigence principale, leur taille doit être inférieure à 10 microns.

Dans la gamme des éléments inférieurs à 10 μ en suspension dans l'eau de mer on trouve :

- des substances organiques dissoutes ou colloïdales
- des particules organiques ou inorganiques détritiques
- des particules organiques vivantes : zooplancton, phytoplancton, bactéries.

Les Pélécypodes ont longtemps été considérés comme des "phytoplanctonophages exclusifs", donc comme "herbivores" (YONGE, 1926). Cette affirmation repose essentiellement sur des considérations enzymologiques.

L'amylase est l'enzyme quantitativement primordiale chez les bivalves. YONGE en déduit qu'ils doivent donc se nourrir essentiellement d'organismes susceptibles de fournir des hydrates de carbone dégradables par l'amylase, c'est-à-dire du phytoplancton. Toutefois, il ne semble pas que certaines espèces se nourrissent uniquement de phytoplancton. En effet, de nombreux Pélécypodes sont détritivores vivant dans des zones où le phytoplancton est peu abondant ou quelquefois absent (slikke des baies peu ouvertes, zones portuaires).

Les moules, par exemple, ont une croissance très rapide dans les ports où les matières organiques dissoutes ou figurées et les bactéries abondent. (POUVREAU, 1974).

Les coques (*Cerastoderma edule* et *Cerastoderma glaucum*) vivent dans le sable vaseux des slikkes et peuvent être élevés dans de bonnes conditions en les nourrissant avec les aliments uniquement artificiels. (GIMAZANE, 1971).

La majorité des travaux sur l'alimentation contrôlée a consisté à nourrir les larves et le naissain de bivalves avec des algues unicellulaires vivantes cultivées intensément en volumes clos, plus ou moins contrôlés.

Les premiers travaux de COLE (1937-1938) lancèrent les prémices de la conchyliculture expérimentale.

Les recherches entreprises depuis à MILFORD aux Etats-Unis et à CONWAY en Grande-Bretagne sont à l'origine du développement considérable que connaît l'aquaculture au cours de cette décennie.

1. Algues unicellulaires vivantes de culture.

COLE (1937) obtient le premier, du naissain d'huître en bassin clos et à une échelle commerciale, en élevant des larves dans des bassins alimentés en eau de mer enrichie de sels nutritifs pour faire proliférer le phytoplancton naturel, "blooming".

BRUCE et al. (1939) sont les précurseurs de la conchyliculture expérimentale en laboratoire. Ils élèvent les larves dans une eau de mer filtrée et les nourrissent avec du phytoplancton cultivé mais de nature inconnue.

IMAI (1949-1950) obtient du naissain en nourrissant dans de grands volumes extérieurs des larves avec des flagelles de type *Monas*. Ce zooflagellé n'est cependant pas utilisé par *Crassostrea virginica* (DAVIS 1950). Des essais, avec un autre protozoaire, le *Bodo*, par WALNE (1956) sur les larves d'*Ostrea* s'avèrent négatifs.

DAVIS (1950), puis WALNE (1963) testent diverses souches de chlorelles pour élever *Crassostrea* ou *Ostrea*, mais ces souches sont toxiques surtout pour les premiers stades du développement. Par contre, *Mercenaria mercenaria* se développe bien à l'aide de chlorelles (LOOSANOFF et MARAK, 1951), (DAVIS et GUILLARD 1958). Cependant, une concentration trop forte est toxique.

Les recherches de DAVIS et GUILLARD (1958), WALNE (1966), DAVIS et UKELESS (1961), DAVIS et CALABRESE (1964), BAYNE (1965) sont les contributions majeures qui ont permis de sélectionner certaines souches d'algues utilisées depuis couramment de part le monde dans les nombreux laboratoires de recherche conchylicole ou dans les écloséries industrielles.

Les régimes alimentaires sont cependant différents selon les espèces de mollusques élevés.

Le clam américain, *Mercenaria mercenaria* se développe bien avec *Chlorococcus*, *Isochrysis* ou *Monochrysis* seuls. Un mélange entraîne une meilleure croissance. Une très bonne ration consiste à mélanger *Isochrysis*, *Monochrysis*, *Dunaliella* et *Platymonas*. DAVIS et GUILLARD (1958) ajoutent

deux algues à paroi épaisse *Chlamydomonas* et *Phaeodactylum*.

L'huître creuse américaine *Crassostrea virginica* apprécie essentiellement *Isochrysis* et *Monochrysis*. De nombreuses espèces lui sont toxiques : *Prymnesium*, *Chlamydomonas*, ou de faible valeur nutritive : *Dunaliella*, *Platymonas*, *Cyclotella*, *Phaeodactylum*.

WALNE (1963, 1970) travaille plus particulièrement le développement et l'élevage de l'huître plate *Ostrea edulis* et montre que *Monochrysis* apparaît le meilleur aliment mais que sa valeur nutritive est variable selon les couvées.

BAYNE (1965) obtient des résultats superposables pour *Mytilus edulis*. *Monochrysis* ou *Isochrysis* seuls ou ensemble permettent le meilleur développement et la croissance la plus rapide.

Il résulte de l'ensemble de ces travaux que les algues ne présentent pas toutes la même valeur nutritive pour les larves de bivalves. Les algues nageantes, sans paroi cellulaire épaisse, petites (2 à 5 μ), produisant peu ou pas de métabolites toxiques, sont les meilleurs aliments.

WALNE (1966), UKELESS (1969), CALABRESE et DAVIS (1961), BAYNE (1965), LEROUX (1974) montrent par ailleurs que des mélanges d'algues permettent une croissance supérieure à celle obtenue avec une alimentation unialgale.

LEROUX (1974) obtient une meilleure croissance des larves de *Mytilus edulis* en ajoutant à une souche de bonne valeur nutritive (*Monochrysis*) une souche de valeur nutritive nulle (*Amphora*).

Ces travaux ont permis de réaliser l'alimentation de n'importe quelle espèce de mollusque en laboratoire, la sélection de telle ou telle espèce d'algue est empirique et liée aux disponibilités en souches des algothèques des laboratoires d'algologie. Les algues utilisées en éclosérie ne correspondent pas toujours aux algues accompagnatrices des bancs de mollusques naturels, notamment dans les stations de captage de naissain (PAULMIER, 1972).

2. Aliments artificiels.

Si certaines souches d'algues distribuées vivantes dans les élevages de larves de mollusques permettent un bon développement, il n'en reste pas moins que la production intensive de ces algues nécessite une technologie compliquée, proche de la bactériologie coûteuse en matériel et temps de travail. Certaines souches d'algues sont difficiles à cultiver. La disponibilité permanente de grande quantité d'algues vivantes de bonne qualité est sujet à trop d'aléas pour permettre une planification des élevages.

Ces raisons ont conduit plusieurs auteurs à essayé de mettre au point une nourriture facilement stockable et de prix de revient minimum.

En 1950, DAVIS essaie sans succès d'élever des larves de *Crassostrea virginica* avec de la levure, du glucose et des détritits.

LOOSANOFF, MILLER et SMITH (1950) obtiennent une croissance faible, accompagnée d'une très forte mortalité, en nourrissant *Mercenaria mercenaria* avec des détritits prélevés dans le milieu marin.

CARRIKER (1961) réussit à élever des larves de *Mercenaria* jusqu'à la métamorphose avec des extraits de céréales.

HIDU et UKELESS (1964) obtiennent de très bons résultats avec *Mercenaria* en employant des algues unicellulaires séchées ou lyophilisées mais les résultats sont mauvais avec *Crassostrea virginica*.

CHANLEY et NORMANDIN (1967) testent une trentaine d'aliments divers sur *Mercenaria*. Ils obtiennent une croissance normale et un taux de mortalité raisonnable en nourrissant les larves avec des ulves broyées fraîches distribuées en suspension.

CLAUS et ADLER (1970) prétendent obtenir une croissance comparable, voire supérieure des larves, du naissain et des juvéniles de *Crassostrea* avec des globules rouges tannés de vertébrés.

La liste des travaux concernant une nourriture artificielle est assez restreinte comparée à celle des nombreuses publications sur les algues vivantes.

La majorité des travaux concernent le clam ou l'huître américaine, aucun ne porte sur l'huître plate ou la moule.

C. RECHERCHES PERSONNELLES.

Nos expériences ont été réalisées depuis décembre 1972 jusqu'à décembre 1974.

Cette étude a porté exclusivement sur la nutrition de larves de *Mytilus galloprovincialis*. L'origine des géniteurs sera précisée pour chaque expérience. Les conditions d'élevage ont été autant que possible standardisées selon les protocoles et les normes décrits au chapitre I.

1. Aliments étudiés.

a) Algues unicellulaires de culture.

Les algues unicellulaires vivantes nous ont permis d'effectuer des élevages témoins. Nous avons essentiellement utilisé *Monochrysis lutheri*, *Tetraselmis suecica* et *Chlorella* sp. Si la plupart des chlorelles sont toxiques, la souche que nous avons employée et qui nous a été fournie par le Centre Océanologique de Bretagne s'est avérée de bonne qualité nutritive aussi bien pour les larves de moules, que pour celles d'huîtres ou de crépidules que nous avons par ailleurs élevées. Cette algue de petite taille (2 à 3 μ) se cultive très bien et permet d'atteindre des densités remarquables supérieures à 50 millions par ml en culture continue.

b) Aliments artificiels.

Définition : Nous qualifierons d'aliments artificiels toute particule susceptible d'être produite en grande quantité, conditionnée, stockable, capable d'assurer le développement larvaire et qui ne soit pas du phytoplancton vivant.

Notre choix a porté sur des aliments déjà testés sur d'autres espèces par les auteurs cités. Ces aliments doivent être si possible courants, de prix de revient minimum et nécessiter le moins de traitement préalable.

Aliments solubles ou colloïdaux.

- 1 - Bouillons : bouillons de viandes du commerce selon CHANLEY et NORMANDIN (1967). Un cube est dissout dans 400 ml d'eau distillée une heure et mélangé à 400 ml d'eau de mer stérile pour être distribué à raison de 0,5 ml par litre d'élevage.
- 2 - Mélange d'acides aminés du commerce (Trophysan) à raison de 0,5 ml par litre.
- 3 - Lait frais ou lyophilisé, dilué à l'eau de mer stérile, distribué à raison de 0,03 ml par litre selon CHANLEY et NORMANDIN (1967).
- 4 - Amidon de maïs ou de blé préparé en mélangeant 1 g à 100 ml d'eau, filtré et distribué à la dilution de 0,5 ml par litre d'eau d'élevage.
- 5 - Emulsion de jaune d'oeuf cuit ou frais dans de l'eau de mer stérile (0,5 ml par litre).

Aliments particuliers.

- 1 - Fucus et ulves ou laminaires séchés ou lyophilisés, broyés grossièrement, affinés aux ultra-sons en particules de 5 à 15 μ , distribués à raison de 100 par μ l d'eau d'élevage.
- 2 - Spirulines (*Spirulina maxima*) provenant du Mexique.(1). Ce sont des algues filamenteuses spiralées de 300 μ de long composées

(1) Nous remercions vivement Monsieur le Professeur JACQUET (Laboratoire de Microbiologie - Université de CAEN) qui nous a fourni les échantillons de spiruline.

d'unités cellulaires de $10\ \mu$ de diamètre, facilement dissociables aux ultra-sons. Ces particules sont très riches en protéines (69 %) et en vitamines. Leur composition chimique ainsi que la flore et la faune d'accompagnement sont parfaitement connues (SAUVAGEOT, 1974).

- 3 - Levures (*Candida tropicalis*) produites en grande quantité dans des fermenteurs industriels sur fuels lourds. Ces levures sont disloquées aux ultra-sons en particules de 1 à $5\ \mu$ distribuées à raison de 100 par μ l. Sa composition chimique et la flore d'accompagnement sont connues (SAUVAGEOT, 1974).
- 4 - Ulves, fucus, laminaires frais broyés au "Potter" dans de l'eau de mer stérile en particule de 1 à $15\ \mu$. 100 particules sont distribuées par μ l d'eau d'élevage.
- 5 - Phytoplancton congelé, séché ou lyophilisé. Les algues unicellulaires sont cultivées selon la méthode décrite au chapitre I. Elles sont centrifugées pendant 30 mn à 5000 tours par mn. Le culot est congelé à -30°C . Nous avons stocké ainsi du *Monochrysis lutheri*, du *Tetraselmis suecica* et du *Chlorella* sp. Plusieurs grammes des deux premières espèces ont été soumises à la Cryodessiccation dans un lyophilisateur Séraïl. Un échantillon de *Tetraselmis suecica* lyophilisé nous a été fourni par le Centre Océanologique de Bretagne. Une algue d'eau douce, le *Scenedesmus*, a été traité par lyophilisation après culture sur milieu de "Lefebvre".

Les algues avant d'être distribuées en suspension de 100 par μ l d'élevage sont réhydratées dans l'eau de mer stérile.
- 6 - Bactéries vivantes ou tuées. Sept souches de bactéries ont été cultivées sur milieu liquide. Nous avons testés des souches de *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Escherichia* et une souche d'eau de mer isolée par PRIEUR (1974), non pathogène pour les larves. Les bactéries sont distribuées soit vivantes, soit tuées à la chaleur après comptage au microscope à contraste de phase.

- 7 - Globules rouges de bovidés selon CLAUS et ADLER (1970).
Le sang est hépariné, centrifugé pour éliminer le sérum.
Les globules sont lavés et tannés par une solution d'acide tannique à 0,1 %. Les globules rouges ainsi traités forment des particules de 3 à 8 μ qui restent en suspension dans l'eau de mer.
- 8 - Infusil, aliment employé en aquariologie, composé de micro-organismes, de nature inconnue, séchés, capables de reviviscence en eau douce.
- 9 - Tetramarin, aliment pour aquariologie qui se présente sous forme de paillettes de quelques mm². Elles se délitent facilement dans l'eau en particules de 1 à 5 μ , aux ultra-sons. L'aliment est composé de farine de poissons, d'oeufs divers, de larves, d'insectes, de crustacés, de vitamines. La composition est de 6,5 % d'azote, 36,8 % de carbone et 5,7 % d'hydrogène (GUERIN, 1971).
- 10 - Kaolin imbibé d'extrait de *Tetraselmis suecica*. Des particules de kaolin de 1 à 15 μ sont agitées dans un homogénéisat de *Tetraselmis suecica*. L'extrait est absorbé par le kaolin qui devient vert.

2. Capture - Toxicité.

a) Définition et méthodes.

Une particule alimentaire doit être capturée, ingérée, assimilée. Elle ne doit pas être toxique et doit permettre la survie, la croissance et la métamorphose de la larve.

Les caractères permettant d'étudier l'acceptabilité d'une particule par une larve sont :

- le contrôle au microscope de la capture de la particule et de son admission dans l'estomac de la larve.
- l'observation de la coloration de la glande digestive en fonction de la couleur de l'aliment fourni. Ainsi des larves nourries avec des globules sanguins présentent une glande digestive colorée en rouge en quelques minutes, des larves nourries avec des spirulines ont une glande ocre, avec du *Tetraselmis*, elle est verte. La coloration de la glande laisse supposer la digestion et l'assimilation des produits ingérés.
- l'estimation de la toxicité par le taux de mortalité. La toxicité d'une particule peut être due à des métabolites libérés dans l'eau ou à une modification chimique du milieu par la prolifération d'une flore bactérienne accompagnatrice. En général, une toxicité est décelable dans les 48 heures.
- certaines particules bien qu'ingérées ne sont pas attaquées par les enzymes stomacales et peuvent provoquer des occlusions intestinales mortelles.

Nous quantifierons la valeur nutritive d'un aliment en déterminant le pourcentage de survie, le pourcentage des divers stades larvaires observés en fonction du temps et le pourcentage de métamorphoses. La croissance de la coquille sera aussi estimée avec toute les réserves formulées au chapitre I. Ces observations seront constamment comparées à celles de deux lots témoins : un lot à jeûn et un lot nourri avec un mélange de phytoplancton vivant.

Plus simplement, un bon aliment permettra d'atteindre un taux maximum de métamorphoses, un mauvais aliment ne permettra pas une survie supérieure à celle d'animaux à jeûn.

b) Résultats.

La majorité des particules testées sont ingérées par les larves de moules dès les premiers stades D.

Tous les aliments sous forme liquide se sont avérés néfastes. Ces aliments enrichissent le milieu en éléments favorisant le développement des

bactéries et ceci malgré l'adjonction d'antibiotiques. On note, très vite les symptômes d'une atteinte bactérienne des larves : ralentissement des mouvements ciliaires, nécrose vélaire, mort et envahissement par des ciliés saprophytes. Sont aussi à écarter les substances colloïdales comme les jaunes d'oeufs qui entraînent les mêmes effets.

L'infusil et le kaolin provoquent des occlusions stomacales et intestinales mortelles.

Tous les autres aliments testés ont été capturés, ingérés et assimilés par les larves dès le stade D de leur développement. Les tests d'acceptabilité et de toxicité ont été effectués sur des périodes de 8 jours.

Dans le tableau n° 10, nous avons récapitulé l'acceptabilité des aliments artificiels étudiés par divers auteurs et nous-mêmes sur des larves de Pélécypodes. Un aliment accepté est noté (+), un aliment toxique est noté (-).

3. Croissance et mortalité.

a) Larves témoins à jeûn.

- Des larves débarrassées de leur flore bactérienne par un séjour de 48 H dans un mélange de 3 antibiotiques à fortes doses (auréomycine 12 mg par litre - pénicilline 20.000 unités par litre - chloramphénicol 20 mg par litre), ont été élevées sans nourriture dans de l'eau de mer filtrée à 0,2 μ , contenue dans un flacon stérile fermé par un bouchon de coton cardé. La survie est de 15 jours. La croissance est nulle. La moyenne des longueurs ne dépasse pas 120 μ . Les plus grandes tailles individuelles atteignent 140 μ de long. Le stade de la larve D n'est jamais dépassé.

- Des larves maintenues à jeûn, mais élevées dans un bêcher ouvert, dans une eau de mer contenant 8 mg par litre de chloramphénicol, ont eu une survie plus ou moins longue selon les élevages. Dans le meilleur des cas cette survie est de 50 jours. La moyenne des longueurs est de 152 μ . Les plus grandes larves observées mesurant 180 μ . Le stade de la véligère à umbo a été atteint. Nous n'avons pas observé de véligères oeillées et par conséquent, aucune métamorphose.

	<i>Crassostrea virginica</i>			<i>Mercenaria mercenaria</i>					<i>M. gallo</i>
	DAVIS 1950	HIDU et UKELES 1964	CLAUS et ADLER 1970	MOOSANOFF 1951	CARRIKER 1951	HIDU et UKELES 1964	RITCHIE	CHANLEY NORMANDIN 1960	MASSON
Détritus				+					
Extrait de Pablum					+			-	
<i>Isochrysis</i> séché		+				+		+	
<i>Scenedesmus</i> séché		+				+			
Ulves séchées							+	+	
Bouillon								+	-
Lait								-	-
Agar								-	
Milieu pour culture bactérienne								-	
Amino acides								-	-
Amino acides + amidon								-	-
Extrait de riz								+	
Extrait d'ulves séchées								+	-
Extrait d' <i>Asteria</i>								-	
Extrait de Laminaires								+	-
Amidon de blé								-	-
<i>Fucus</i> séché								+	-
Mélange d'algues séchées broyées								+	-
<i>Mytilus</i> séchée broyée								-	
Levure	-							-	-
Ulve fraîche broyée								+	+
Ulve bouillie								+	
<i>Fucus</i> frais broyé								+	-
<i>Ascophyllum</i> broyé								-	
<i>Molgula</i> broyé								+	
Spiruline séchée broyée									+
Infusil									-
Tétramarin									+
Kaolin									-
<i>Vitellus</i> d'oeuf									-
Globules rouges		+							+
<i>Tetraselmis</i> congelé									+
<i>Monochrysis</i> congelé									+
<i>Chlorella</i> congelée									+
<i>Tetraselmis</i> lyophilisé									+
<i>Monochrysis</i> lyophilisé									+
Bactéries	-								-

TABLEAU 10

La différence de survie observée entre ces deux types d'expériences peut s'expliquer par la présence de bactéries résistantes au chloramphénicol qui se développent dans l'élevage ouvert, et sont assimilées comme nutriment par les larves.

b) Larves témoins nourries avec du phytoplancton vivant :

Un apport de 100 cellules par microlitre de *Monochrysis*, ou d'un mélange *Monochrysis lutheri*, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella sp*, entraîne une croissance moyenne de la population larvaire selon trois phases, déjà observées par LE PENNEC et PRIEUR (1973) :

- une phase de 15 à 30 jours, de faible croissance, la moyenne des longueurs des coquilles passe de 90 μ à 140 μ .
- une phase de 30 jours de croissance rapide ou "explosive".
La longueur moyenne passe de 130 μ à 230 μ .
- une phase de ralentissement au moment de la métamorphose.

La première phase de croissance est semblable à celle observée avec les larves à jeûn. Elle correspond à l'utilisation des réserves embryonnaires (disparition des globules lipidiques), ainsi qu'à une activation de la fonction de nutrition (organogénèse du tractus digestif, apparition d'une amylase).

La deuxième phase, ou phase de croissance est dépendante de la nutrition, donc de la valeur nutritionnelle des aliments, les autres paramètres ($t^{\circ}\text{C}$, $\text{S}^{\circ}/\text{‰}$, densité lumière) étant par ailleurs, optima.

La troisième phase, plus particulièrement étudiée par BAYNE (1966) correspond à la métamorphose. La larve ne s'alimentant plus, la nutrition n'est donc pas, facteur primordial. Celui-ci, semblerait être la fixation, la larve recherchant activement un substrat.

Le taux normal de mortalité dans un élevage est une notion difficilement quantifiable. Les nombreux élevages que nous avons fait, et la bibliographie consultée, bien que ne renfermant que peu de précisions sur ce sujet,

montrent que 20 à 40 % de mortalité par rapport au nombre initial de larves D, semble un objectif à atteindre.

Le pourcentage de fixation, que nous avons observé dans les élevages sains et convenablement nourris varie de 1 à 35 %. La métamorphose des larves a été atteinte entre 30 et 80 jours après la fécondation selon les élevages.

Il est impossible d'établir une courbe témoin référentielle définitive. Il convient donc, pour chaque série expérimentale, d'élever simultanément des larves avec du phytoplancton vivant et de maintenir des témoins à jeûn.

c) Larves nourries avec des aliments artificiels depuis le stade D.

Les essais d'acceptabilité et de toxicité d'aliments artificiels étudiés nous ont conduit à éliminer un certain nombre de produits. Nous avons essentiellement testé des spirulines, des ulves fraîches broyées, du tétramarin, des globules rouges, des algues unicellulaires lyophilisées ou congelées.

1re série expérimentale :

- Protocole : 6 lots de larves D ont été élevés avec une distribution de 50 à 100 particules de spiruline par μ l d'élevage, sans adjonction d'antibiotiques. Les géniteurs étaient d'origine méditerranéenne (TOULON).
- Résultats : environ 17 % de la population larvaire dans les 6 lots a atteint le début de métamorphose après 62 jours d'élevage. Les larves étaient dans leur grande majorité umbonnées, 10 % étaient oeillées et environ 1 à 2 % au stade de la pédivéligère. A partir du 60e jour, une pollution bactérienne a détruit l'élevage. Le témoin élevé avec du Monochrysis vivant a été atteint parallèlement par les germes.

2e série expérimentale (mai-juin 1973) :

- Protocole : le même que précédemment, mais à tous les élevages sont ajoutés 5 mg par litre d'auréomycine.
- Résultats : la métamorphose, puis la fixation des larves dans toutes les séries sont obtenues de façon identique à partir du 35e jour.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus sur la croissance larvaire dans cette série :

Nombre de jours après la fécondation	Stade observé	\bar{L} en μ	% du stade	% de mortalité
5	larve D	110 μ	30 %	0 %
12	"	150 μ	70 %	0 %
17	larves à umbo	170 μ	60 %	10 %
20	larves ocellées	200 μ	40 %	20 %
25	pédivélignes	210 μ	40 %	30 %
30	métamorphose	230 μ	5 %	80 %
35	fixation	250 μ	1 %	90 %

3e série expérimentale (juin-juillet 1973) :

- Protocole : un premier lot de 2 béciers de 2 litres est nourri avec des spirulines.

un deuxième lot de 2 béciers de 2 litres est nourri avec un mélange *Monochrysis*, *Tetraselmis*.

le troisième lot est à jeun.

L'élevage se fait en présence de chloramphénicol (8 mg par litre).

Les géniteurs sont originaires de TOULON.

- Résultats :

Nombre de jours	Spiruline	Phytoplancton	Larves à jeûn
5	110 μ	112 μ	100 μ
10	131 μ	126 μ	110 μ
16	134 μ	133 μ	100 % mortalité
21	141 μ	145 μ	
27	148	152 μ	
31	157	163 μ	

Au 35e jour la mortalité était de 100 % dans tous les lots. La fixation n'a pas été obtenue. 80 % des larves étaient umbonnées dans les deux lots nourris. Quelques larves étaient oeillées (5 %) et mesuraient 180 à 200 μ de long.

4e série expérimentale (mar-avril 1974) :

- Protocole : (5 lots de 3 bécchers). Le premier lot est nourri avec du *Monochrysis lutheri* vivant. Le deuxième lot est maintenu à jeûn. Le troisième lot est nourri de globules rouges tannés. Le quatrième lot est nourri de spirulines et le cinquième de *Monochrysis* lyophilisé. 8 mg de chloramphénicol par litre ont été ajoutés à tous les élevages. Les géniteurs sont originaires de VIGO.

- Résultats :

Nombre de jours	<i>Monochrysis</i> vivant	A jeûn	Globules rouges	Spirulines	<i>Monochrysis</i> lyophilisé
10	100 μ	100 μ	100 μ	100 μ	100 μ
18	196 μ	119 μ	136 μ	159 μ	147 μ
25	252 μ	mort	136 μ	160 μ	147 μ
27	260 μ		mort	169 μ	169 μ
30	290 μ — fixation —			202 μ	183 μ
39				mort	221 μ
45					290 μ

Les expériences ont été conduites jusqu'à la fixation ou jusqu'au dépérissement.

Les larves des béciers d'un même lot n'ont pas évolué de la même façon. Ainsi, pour le lot nourri avec du *Monochrysis* vivant, le bécier n° 1 qui présentait à 30 jours 60 % de mortalité, la majorité des larves était au stade véligère oeuillée, quelques-unes au stade de la pédivéligère. Le bécier n° 2 a été abandonné à 25 jours à cause d'une mortalité supérieure à 80 %. Par contre, le bécier n° 3 présentait moins de 5 % de mortalité et 22 % des larves se sont fixées.

Les lots à jeûn ont connu une mortalité de 100 % au 20e jour, ceux nourris avec des globules rouges au 26e jour.

Les larves à jeûn n'ont pas dépassé le stade D. Celles nourries avec des globules rouges étaient umbonnées, un très faible pourcentage était oeuillé. (2 %).

Pour les lots nourris avec du *Monochrysis* lyophilisé, la mortalité a été respectivement de 30 %, 50 %, 55 % dans chacun des trois béciers à 45 jours. Dans chaque bécier des larves se sont fixées (5 à 25 %). Les premières fixations ont eu lieu pour des longueurs de 260, 270 μ mais avec 15 jours de retard par rapport aux larves nourries avec du *Monochrysis* vivant.

5e série expérimentale (octobre-décembre 1974) :

- Protocole (6 lots de 2 béciers) :

1er lot est nourri avec du *Monochrysis* vivant (100 cellules par μ l).

2e lot est nourri avec un mélange de *Monochrysis*, de *Tétrahelms* et de *Chlorella* vivants (100 cellules par μ l).

3e lot est maintenu à jeûn.

4e lot est nourri de *Monochrysis* congelé (100 cellules par μ l).

5e lot est nourri d'un mélange de *Monochrysis*, *Tétrahelms*, *Chlorella* congelés (100 cellules par μ l).

6e lot est nourri d'un mélange de *Monochrysis* congelé (100 cellules par μ l) et de *Monochrysis* vivant (10 cellules par μ l).

L'élevage est effectué en présence de chloramphénicol (8 mg par litre).

Les géniteurs sont originaires de VIG0.

- Résultats :

Nombre de jours	1	2	3	4	5	6
5	110	110	110	110	110	110
13	139	159	120	149	150	146
15	150	-	120	155	159	157
20	168	181	-	161	186	-
26	180	190	133	181	200	194
32	203	203	140	198	208	215
35	209	209	150	213	211	218
38	227	222	134	223	244	229
42	250	236	145	243	246	233
45	247	245	143	249	258	-
47	261	271	152	277	281	259

Tous les élevages nourris se sont comportés identiquement. La mortalité a été très faible, inférieure à 10 %. Dans tous les béciers, 90 % de la population a atteint le stade de la pédivéligère. La fixation a été importante de 25 à 40 % selon les béciers.

Les élevages à jeûn ont survécu tout au long de l'expérience (40 % de survie). Les larves étaient umbonnées, certaines mesuraient 180 μ de long. Cependant, aucune véligère oeuillée n'a été observée. Cette remarquable tenue des larves à jeûn peut résulter d'un apport nutritif par des bactéries résistantes au chloramphénicol et non pathogènes qui sont susceptibles de se développer dans l'élevage.

L'intérêt de cette série expérimentale est que les larves sont capables de se nourrir de phytoplancton mort, conservé congelé pendant plusieurs mois.

d) Larves nourries à partir du 20e jour de leur développement avec des aliments artificiels seuls ou en complémentation.

Les expériences précédentes ont montré que certains aliments artificiels ou conditionnés permettaient la croissance de larves. Cependant, il semble qu'il manque un ou des facteurs pour qu'une particule, apparemment capturée et ingérée comme la spiruline permette le passage de la métamorphose avec un rendement comparable à celui obtenu avec du phytoplancton vivant ou congelé.

Cette carence peut provenir de l'aliment et, être liée à une dénaturation par la lyophilisation ou le séchage d'un éventuel facteur de croissance.

Le blocage de la croissance observé avec les aliments artificiels peut être dû à leur faible coefficient de digestibilité par la larve. Des particules artificielles sont peut-être mieux acceptées par des larves plus âgées.

Nous avons donc élevé des larves umbonnées âgées de 20 jours avec divers aliments artificiels seuls ou en complémentation de phytoplancton vivant.

- Protocole :

(Série doublée de 11 béchers de 1 litre, soit 22 béchers).

Les larves issues des mêmes parents de la rade de BREST sont élevées pendant 20 jours dans un récipient de 75 litres et nourries de *Mono-chrysis*. Les longueurs des coquilles des larves variaient de 180 à 220 μ avec une moyenne de 206 μ (T° : 20°C, $S\%$: 32 %). Elles sont ensuite réparties dans les béchers et nourries selon le tableau suivant.

Béchers	Aliments	Traitement - Distribution
1	<i>Chlorella</i> sp	10 cellules par μ l
2	<i>Chlorella</i> sp	200 cellules par μ l
3	A jeûn	
4	Spirulines	Broyées au potter. 100 part./ μ l
5	Spirulines + <i>Chlorella</i>	Broyées au potter. 100 part./ μ l + 10 cellules par μ l
6	Tétramarin	Disloqué aux U.S.
7	Tétramarin + <i>Chlorella</i>	Disloqué aux U.S. + 10 cellules par μ l
8	Ulves fraîches	Disloquées au potter. 100 part./ μ l
9	Ulves fraîches + <i>Chlorella</i>	Disloquées au potter. 100 part./ μ l + 10 cellules par μ l
10	<i>Tetraselmis</i> lyophilisé	50 cellules par μ l
11	<i>Tetraselmis</i> lyophilisé + <i>Chlorella</i>	50 cellules par μ l + 10 cellules par μ l

- Résultats :

	3/7	5/7	7/7	12/7	16/7
1	217	223	241	262	275
2	219	259	283	317	301
3	224	216	223	223	-
4	215	235	224	225	220
5	221	215	230	266	288
6	209	-	-	-	-
7	225	249	233	272	296
8	217	217	216	241	262
9	219	241	256	275	278
10	216	265	267	281	296
11	217	254	277	301	381

- Remarques :

Dans tous les élevages sauf 2, n° 3 à jeûn et n° 6, Tetramarin seul, des larves se sont métamorphosées et fixées.

La meilleure croissance observée a été avec le mélange *Tetraselmis* lyophilisé + Chlorelles vivantes, n° 11 (164 μ en 15 jours). Cette croissance est supérieure à celle obtenue avec le témoin nourri de 10 cellules par microlitre de chlorelles vivantes, n° 1, (58 μ en 15 jours), mais aussi au témoin nourri avec 200 cellules par microlitre de chlorelles vivantes, n° 2 (81 μ). D'autre, part, le *Tetraselmis* séché seul, n° 10, permet une bonne croissance (80 μ /15j). L'adjonction de cellules vivantes en petites quantités provoque un effet synergétique de croissance, n° 11.

Les larves nourries avec les spirulines, n° 4, n'ont pas augmenté de taille mais ont survécu.

Les larves nourries avec des spirulines + chlorelles vivantes, n° 5, ont atteint une longueur moyenne légèrement supérieure à celle observée pour les larves nourries uniquement de chlorelles, n° 1.

Les larves nourries avec des ulves fraîches seules, n° 8, ont eu une augmentation de taille de 45 μ en 15 jours. La croissance est supérieure en mélangeant les deux particules (59 μ), n° 9.

Le tétramarin seul, n° 6, n'a pu être suivi jusqu'au bout.

Le tétramarin en complémentarité de chlorelles, n° 7, a permis un bon développement avec effet synergétique (71 μ /15j).

Nous avons prolongé la nutrition de ces larves après leur métamorphose et leur fixation. Nous avons compté au bout d'un mois d'élevage le nombre de post-larves et estimé le pourcentage de naissain obtenu par rapport au nombre de larves initial :

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
10 %	25 %	0 %	1 %	2 %	0 %	31 %	22 %	27 %	19 %	28 %

Remarques :

Les pourcentages de naissain de moules obtenu ne sont pas en relation avec les vitesses de croissance observées.

Le tétramarin en complémentarité de chlorelles, n° 7, a permis l'obtention du plus grand nombre de naissain (31 %) suivi par le *Tetraselmis* lyo. + Chlorelles, n° 11, puis par les Ulves + Chlorelles. (n° 9).

Il semble donc qu'une particule détritique peut permettre une complémentarité nutritionnelle d'algues unicellulaires.

Les algues lyophilisées semblent la meilleure particule séchée capable d'assurer la nutrition larvaire.

D. DISCUSSION.

Les larves de *Mytilus galloprovincialis* sont capables de capturer, d'ingérer et d'assimiler une nourriture non vivante (broyats de spirulines, ulves fraîches broyées, tétramarin, algues unicellulaires congelées ou lyophilisées).

Dans la nature le rôle des aliments sous forme détritique ou soluble paraît fondamental (SANTOLINI et HOPTON, 1972). COLLIER et al (1950-1953), DESGOUILLES (1968) établissent une relation entre la vitesse de croissance des lamelli branches et le taux de matières organiques dissoutes ou figurées dans l'eau de mer. Selon CORNER et COWEY (1968), DEGENS (1970) plus de 50 % des détritus sont composés de substances protéiques, dont la composition en amino-acides est suffisante pour nourrir la plupart des animaux marins. En ce qui concerne les larves, il est évident que dans la nature la quantité de phytoplancton présente n'est pas suffisante pour permettre un développement comparable à celui obtenu en élevage contrôlé avec 100 cellules par μl . Un apport nutritionnel sous une autre forme est nécessaire. Le seston et plus particulièrement le tripton semble jouer ce rôle.

Cependant, il apparaît que dans les élevages au Laboratoire les particules détritiques, colloïdales ou dissoutes, présentent des inconvénients. Ces aliments ont tendance à s'agglomérer en amas qui se décomposent et favorisent le développement de bactéries et de ciliés. Il semble, d'autre part, que le traitement des aliments (séchage, broyage) détruise des facteurs de croissance présents à l'état vivant ou conservés par la congélation. L'emploi de nourriture détritique nécessite une meilleure connaissance de la bactériologie des élevages.

Néanmoins, la mise au point d'une nourriture stockable pour élever des larves et des jeunes stades post-larvaires d'Invertébrés marins ne semble pas une vue de l'esprit. Les problèmes rencontrés sont technologiques et non pas biologiques. La particule alimentaire ne doit pas se décomposer, il faut qu'elle soit protégée par une enveloppe (membrane ou capsule). Pour l'instant seules les algues unicellulaires de cultures présentent cet aspect, nous avons montré qu'elles pouvaient être conservées lyophilisées ou congelées et offrir les mêmes qualités nutritives pour les larves de moules. La mise au point de

culture intensive d'algues unicellulaires dans des fermenteurs ou dans des boudins de plastique (techniques du Centre Océanologique de Bretagne) permet d'obtenir de grandes quantités d'algues en quelques mois. Ces algues, une fois concentrées peuvent être congelées et stockées et redistribuées à volonté dans les élevages.

Cette technique permettra aux laboratoires de recherches ne possédant pas de culture d'algues d'élever des Invertébrés en se procurant la nourriture auprès d'organismes producteurs. Si les espèces d'intérêt commercial, comme les ostréidés, sont capables d'utiliser cette nourriture, le développement de la technique permettra la planification des élevages en écloserie qui était jusqu'ici difficilement envisageable avec une nourriture vivante.

CONCLUSIONS GENERALES

Le but initial de ce travail était de vérifier si les larves de Pélécypodes étaient susceptibles d'accepter et d'assimiler une nourriture autre que des algues vivantes (phytoplancton ou algues monocellulaires de culture).

Pour cela, il nous a fallu choisir une espèce susceptible d'être élevée à partir de la fécondation artificielle tout au long de l'année à LUC-sur-MER. Les espèces locales ne présentant pas cet intérêt, nous avons retenu *Mytilus galloprovincialis*, que l'on trouve facilement sur le marché.

L'ensemble des résultats et des informations présentées dans ce mémoire montre le grand intérêt que représente cette espèce comme matériel de laboratoire.

L'obtention des gamètes est possible de Septembre à Juillet de l'année suivante. L'adaptation des larves aux eaux locales ne posent pas de problème majeur. Cependant, leur croissance est en général, moins rapide que pour celles de *Mytilus edulis*, les stades larvaires obtenus sont souvent plus petits.

Cette différence peut avoir deux causes : ou bien, les paramètres écologiques de nos élevages ne sont pas optima en ce qui concerne *Mytilus galloprovincialis*, ou bien il existe une différence véritable de taille entre les deux espèces. En fait, il semble que la variabilité individuelle au niveau de croissance soit très grande pour les deux espèces. Le biométrie ne peut être ici retenue comme élément de diagnose. Le problème est important en ce qui concerne l'expérimentation car il apparaît

impossible d'établir, chez les Mytilidés, une courbe de croissance référentielle indispensable pour interpréter les résultats de nutrition et de croissance. L'étude de l'évolution de la population larvaire par estimation des pourcentages de mortalité, et de stades caractéristiques du développement doit obligatoirement compléter les résultats de la biométrie.

L'hybridation entre *Mytilus edulis* et *Mytilus galloprovincialis*, obtenue pour la première fois, permet d'envisager d'une façon nouvelle, en élevage contrôlé, le problème de l'isolement spécifique des deux espèces. L'amélioration de la qualité marchande des espèces, l'adaptation à des conditions écologiques diverses, la résistance aux maladies, aux parasites ou aux commensaux ne pourront être abordés que par des techniques de génétique et de sélection au laboratoire. La moule semble donc intéressante pour mener à bien ces recherches à l'échelle expérimentale.

D'autre part, ce matériel permet d'étudier les aspects divers de la nutrition des larves et des jeunes stades d'un point de vue anatomique et fonctionnel. Les principaux points anatomiques observés par BAYNE (1970) chez *Mytilus edulis* ont été confirmés, mais une étude histologique originale, ultrastructurale et enzymologique portant sur le tractus digestif a été entreprise. L'organogénèse rapide du tractus, liée à la faible quantité de réserves de l'oeuf (larves planctotrophiques) en opposition aux (larves loecitotrophiques) et à ses potentialités enzymatiques précoces a été suivie. Le fonctionnement du tractus digestif larvaire est comparable à celui de l'adulte. La capture des particules est un phénomène mécanique, la digestion est à la fois mécanique (broyage et brassage du bol alimentaire par la tige cristalline) et enzymatique, extracellulaire (enzymes vraisemblablement libérées par la tige cristalline, par les cellules sécrétrices et par les cellules digestives dégénérantes) et intracellulaire (système phagolysosomal de la cellule digestive). Ce matériel paraît particulièrement favorable pour l'étude de la cytologie de la glande digestive chez les mollusques. La filiation et le turn-over cellulaires semblent facile à suivre du fait du faible nombre de cellules. La petite taille des organes permet d'observer les rapports entre les divers compartiments et de suivre les phénomènes de la digestion. Les techniques histochimiques et ultrastructurale doivent cependant être adaptées à ce matériel.

Des expériences d'alimentation contrôlée nous ont montré que les larves de moules n'étaient pas des phytoplanctonophages exclusifs. Elles peuvent assimiler la nourriture sous forme de matières solubles ou figurées. Les détritiques jouent vraisemblablement un rôle important dans leur nutrition in situ. Les problèmes rencontrés au laboratoire (bactériologie, maintien en suspension des particules, agglomération des particules) sont trop complexes pour envisager dès à présent, une nutrition artificielle de type détritique ou soluble. La complémentation d'algues de culture à l'aide de ces produits organiques n'est, cependant, pas à écarter. Toutefois, il apparaît que les algues de culture sont difficilement remplaçables. Par contre, le conditionnement de ces algues par les techniques de congélation ou de lyophilisation apparaît être une solution d'avenir importante pour la planification de la production dans les écloséries mais aussi comme source d'aliments pour les expérimentations à petites échelles au laboratoire. Les résultats que nous avons obtenus en nourrissant des larves de moules avec des algues congelées mortes sont en ce sens encourageants. Il reste à déterminer si toutes les espèces de Pélécypodes acceptent cette forme de nourriture. Ces résultats montrent que d'un point de vue théorique la possibilité de nourrir des larves avec une particule inerte est envisageable. La mise au point en pharmacie galénique des microencapsulations de produits, le développement des microméthodes d'analyse des besoins nutritifs des larves laisse envisager la réalisation de particules nutritives de synthèse dans un proche avenir.

- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -

- ANSELL (A.B.) - 1962 - The functional morphology of the larva, and the post-larval development of *Venus striatula* (da Costa). *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 42, 419-443.
- BAYNE (B.L.) - 1964 - The reponses of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). To light and to gravity. *OIKOS*, 15, 162-174.
- BAYNE (B.L.) - 1965 - Growth and delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis*. *Ophelia*, 2 (1), 1-47.
- BAYNE (B.L.) - 1970 - Some morphological changes that occur at the metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis*, In *Fourth Europ. Mar. Biol. Symp.* 1971. Cambridge Univ. Press., 259-280.
- BOCQUET (C.) - 1953 - Recherches sur le polymorphisme naturel des *Jaera marina*. Fabr. (Isopodes Asellotes). *Arch. Zool. exp. gén.*, 90, 187-450.
- BORISJAK (A.) - 1909 - *Pelecypoda* du plancton de la mer Noire, *Bull. Sci. Fr. Belg.*, 42, 149-181.

- BOURCART (C.), LAVALLARD (R.) et LUBET (P.) - 1965 - Ultrastructure du spermatozoïde de la Moule (*Mytilus perna* von Ihering). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 260, 5096-5099.
- BRENKO (M.H.) et CALABRESE (A.) - 1969 - The combined effects of salinity and temperature on larvae of the mussel *Mytilus edulis*. *Marine biology*, 4, (3), 224-226.
- BRENKO (M.) - 1972 - Gonad development, spawning and rearing of *Mytilus* sp. larvae in the laboratory. *Symposium. F.A.O.*
- BROWN (C.H.) - 1952 - Some structural proteins of *Mytilus edulis*. *Quart. J. micr. Sci.*, 93, 487-502.
- BRUCE (J.R.) et al - 1939 - The rearing of oyster larvae on an algal diet. *J. Mar. Ass. U.K.*, 24, 337-374.
- CARRIKER (M.R.) - 1961 - Interrelation of functional morphology, behaviour, and antecology in early stages of the bivalve *Mercenaria mercenaria*. *J. Elisha Mitchell scient. Soc.*, 77, 168-242.
- CHANLEY (P.) et NORMANDIN (R.F.) - 1967 - Use of artificial foods for larvae of the hard clam, *Mercenaria mercenaria* (L.). *Proc. nat. shell fish. Ass.*, 57, 31-37.
- CLAUS (G.) et ADLER (C.) - 1970 - Optimal conditions for oysters grown in closed environments. 6th Annual Reprints. *Mar. tech. Soc.*, 1.

- COLE (H.A.) - 1937 - Experiments in the breeding of oysters (*Ostrea edulis*) in tanks, with special reference to the food of the larva and spat. *Fish. invest. Min. Agric. Fish., London, Ser. II*, 15, 1-24.
- COLE (H.A.) - 1938 - The fate of the larval organs in the metamorphosis of *Ostrea edulis*. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, 22, 469-484.
- COLLIER (A.) et al - 1953 - Effect of dissolved organic substances on oysters. *Fish. Bull. U.S.*, 54, 167-185.
- CORNER (E.D.S.) et COWEY (C.B.) - 1968 - Biochemical studies on the production of marine zoo-plankton. *Biol. rev.*, 43, 393-426.
- CRANFIELD (H.J.) - 1973 - A study of the Morphology, Ultrastructure and Histochemistry of the foot of the Pediveliger of *Ostrea edulis*. *Mar. biol.*, 22, 187-202.
- CREEK (G.A.) - 1960 - The development of *Cardium edule* L. *Proc. Zool. Soc. Lond.*, 135, 243-60.
- DAVIS (H.C.) - 1950 - On food requirements of larvae of *Ostrea virginica*, *Anat. Rec.*, 108, 132-133.
- DAVIS (H.C.) et GUILLARD (R.R.) - 1958 - Relative value of ten genera of micro-organisms as foods for oyster and clam larvae. *U.S. Fish Wild life Serv. Fish. Bull.*, 136, 293-304.

- DAVIS (H.C.) et UKELESS (R.) - 1961 - Mass culture of phytoplankton as foods for metazoans. *Science*, 134, 562-564.
- DAVIS (H.C.) et CALABRESE (A.) - 1964 - Combined effects of temperature and salinity on development of eggs and growth of larvae of *Mercenaria mercenaria* and *Crassostrea virginica*. *Fishery Bull. Fish Wildl. Serv. U.S.*, 63 (3), 643-655.
- DE BLOCK (J.W.) and GEELEN (H.J.) - 1958 - The substratum required for the settling of mussels (*Mytilus edulis*). *Arch. neerl. Zool. Volume jubilaire*, 446-460.
- DEGENS (R.T.) - 1970 - Molecular nature of nitrogenous compounds in sea water and recent marine sediments. In : D.W. Hood (Ed.). *Symposium on organic matter in natural waters. Institut of Marine science, University of Alaska, Occasional publication 1*, 77-106.
- FIELD (I.A.) 1923 - Biology and economic value of the sea mussel *Mytilus edulis*. *Bull. U.S. Bur. Fish.*, 38, 127-259.
- FLASSCH (J.P.) et NORMANT (Y.) - 1974 - Mise en place d'une unité de production contrôlée d'algues au Centre Océanologique de Bretagne : premiers résultats - *Publications du Centre National pour l'Exploitation des Océans. Ser. actes de colloque n° 1*.
- GABBOTT (P.A.) et HOLLAND (D.L.) - 1973 - Growth and metabolism of *Ostrea edulis* Larvae. *Nature, London*, 241, 475-476.

- GALTSOFF (P.S.) - 1942 - Problems of productivity of oyster bottoms.
Address Nat. Shell fish. Assn. Philadelphia. 7p.
- GIMAZANE (J.P.) - 1971 - Introduction à l'étude expérimentale du cycle sexuel d'un mollusque Bivalve *Cardium edule* L. Thèse de 3e cycle - Université de Caen.
- GIUSTI (F.) - 1970 - The fine structure of the style sac and intestine in *Mytilus galloprovincialis* L.M.K *Proc. malacol. Soc. Lond.*, 39, 95-104.
- GUERIN (J.P.) - 1971 - Utilisation de nourritures artificielles pour l'élevage de jeunes stades d'Invertébrés benthiques.
Thethys, 2, (3), 557-566.
- GUILLARD (R.R.) - 1969 - Further evidence of the destruction of bivalve larvae by bacteria. *Biol. Bull.* 117, 258-266.
- HERLIN-HOUTTEVILLE (P.) - 1974 - Contribution à l'étude cytologique et expérimentale du cycle annuel du tissu de réserve du manteau de *Mytilus edulis* (L.). Thèse de 3e cycle - Université de Caen.
- HERLIN-HOUTTEVILLE (P.) - 1975 - Absorption des métabolites par les cellules germinales femelles chez *Mytilus edulis*. *C.R. Acad. Sci. Paris. (Sous presse)*.
- HICKMANN (R.W.) et GRUFFYDD (L.L.D.) - 1970 - The histology of the larva of *Ostrea edulis* during Metamorphosis - In *Fourth Europ. Mar. Biol. Symp.* - 1971 - Cambridge, Univ. Press., 281-294.

HIDU (H.) et UKELESS (R.) - 1964 - Dried unicellular algae as food for larvae of the hard shell clam, *Mercenaria mercenaria*. *Proc. Nat. Shell fish. Ass.*, 53, 85-101.

IMAI (T.) et al - 1950 - Artificial breeding of oysters in tanks. *Tohoku. J. of Agric. Res.*, 1, 69-86.

IMAI (T.) et SAKAI (S.) - 1961 - Study of breeding of Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Tohoku J. Agric. Res.*, 12, 125-163.

JØRGENSEN (C.B.) - 1946 - Reproduction and larval development of marine bottom invertebrates. *Lamelli branchia. Medd. Komm. Havundersøg., Kbh ser. (d) : Plankton*, 4, 277-311.

LEGALL (P.) - 1969 - Etude des moulières normandes. Renouvellement, cycles, croissance. *Thèse Doctorat Spécialité. Fac. Sc. Caen.*

LE PENNEC (M.) - 1970 - Elevages au Laboratoire de Mollusques Bivalves ; Morphogenèse de la charnière des *Veneridae*. *Thèse de 3e cycle. Fac. Sc. Brest.*

LE PENNEC (M.), PRIEUR D.) et CHARDY (P.) - 1973 - Développement larvaire de *Mytilus edulis* en présence d'antibiotiques. 2e partie : Action sur la croissance de quatre antibiotiques : Auréomycine, Erythromycine, Chloramphénicol et Sulfamerazine. *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, 30, 115-137.

- LE PENNEC (M.) et PRIEUR (D.) - 1972 - Développement larvaire de *Mytilus edulis* en présence d'antibiotiques.
1re partie : Détermination des concentrations actives non toxiques de quatre antibiotiques : auréomycine, érythromycine, chloramphénicole et sulfaménazine. *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, 28, 167-180.
- LEROUX (S.), LUCAS (A.), NEUVILLE (O.) et DASTE (P.) - 1973 - Influence diatomée *Amphora perpusilla* (Grunow) sur le développement des larves de moules en élevage expérimentale. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 277, 2781 - 2784.
- LILLIE (F.R.) - 1895 - The embryology of the Unionidae. *Jour. Morph.*, 10, 1-100.
- LOOSANOFF (V.L.) - 1954 - New advances in the study of bivalve larvae - *Anna. Scient.*, 42, 607-624.
- LOOSANOFF (V.L.) et MARAK (R.R.) - 1951 - Culturing lamellibranches larvae. *Anat. Rec.*, 111, 129-130.
- LOOSANOFF (V.L.), MILLER (W.S.) et SMITH (P.B.) - 1951 - Growth and setting of larvae of *Venus mercenaria* in relation to temperature. *J. Mar. Res.*, 10, 59-81.
- LOOSANOFF (V.L.) et DAVIS (H.C.) - 1963 - Rearing of bivalve mollusks. In : *Advances in Marine Biology*, F.S. Russel Ed., Academic Press, Inc., London, 1, 1-136.

- LUBET (P.) - 1959 - Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et Pectinidés (Moll. Lamellibranches).
Rev. Trav. Inst. Sc. techn. Pêches mar. Paris, 23, 337-348.
- LUBET (P.) - 1970 - Cycles et rythmes sexuels chez les mollusques pélecypodes. Influence du milieu et étude expérimentale. *Ann. Inst. Michel Pacha*, 3, 24-50.
- LUBET (P.) - 1973 - Exposé synoptique des données biologiques sur la Moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamark, 1819). *Synopsis F.A.O. sur les pêches n° 88*. Références pour : Philippi, Jeffreys, Weinkauff, Issel, Carus, Piersanti, Bouxin, Soot Ryan, Bucquoy, List, Pourcel, Camy, Ricci, Genoves, Gomoïou, Lewis et Seed.
- LUBET (P.) et BOURCART (C.) - 1963 - Nouvelles observations sur la physiologie sexuelle de *Mytilus galloprovincialis* L.M.R. C.R., *Soc. Biol. Paris*, 152 (2), 1966-68.
- LUBET (P.) et LE GALL (P.) - 1967 - Observations sur le cycle sexuel de *Mytilus edulis* L. à LUC-sur-MER. *Bull. Soc. Lin. Normandie*, 10 (8), 303-307.
- LUCAS (A.) - 1970 - Conchyliculture expérimentale. *Publications du Centre National pour l'Exploitation des Océans. Série Biologique n° 70-01*.
- LUCAS (A.) et PRIEUR (D.) - 1974 - Le contrôle bactérien des élevages de larves de bivalves. *Publications du Centre National pour l'Exploitation des Océans. Ser : actes de colloques n° 1*.

- MAPSTONE (G.M.). 1970 - Feeding activity of veligeres of *Nassarius reticulatus* and *Crepidula fornicata* and the use of artificial foods in maintaining cultures of these larvae. *Helgol. wiss. meer.* 20, 567-575.
- MANSOUR (K.) et ZAKI (F.G.) - 1946 - The digestive diverticula of *Unio prosidensis* as organs of secretion. *Proc. Egypt. Acad. Sci.*, 2, 38-44.
- MANSOUR (K.) - 1946 - Food and digestive processes in Lamellibranchia. *Nature, Lond.*, 157, 482.
- MARTOJA (M.) - 1964 - Contribution à l'étude de l'appareil digestif et de la digestion chez les gastéropodes carnivores de la famille des Nassariidés. *La cellule*, 64,(3), 237-333.
- MASSON (M.) - 1973 - Essais préliminaires d'élevage de larves de Mytilidés et d'Ostréidés à l'aide de nourritures artificielles. *Haliotis. (Sous presse)*.
- MASSON (M.), DELONGCAMP (D.) et LUBET (P.) - 1974 - Nutrition artificielle des larves de bivalves : intérêt et problèmes. *Publications du Centre National pour l'Exploitation des Océans. ser. actes de colloques n° 1.*
- MATTHEWS (A.) - 1913 - Notes on the development of *Mytilus edulis* and *Aleyonnum digitatum* in the Plymouth Laboratory. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 9, 557-560.

MAYRE (E.) - 1963 - Animal species and evolution. *Harvard Univ. Press*,
Cambridge. Mass. U.S.A.

MILLAR (R.H.) - 1955 - Notes on the mechanism of food movement in the gut
of the larval oyster, *Ostrea edulis*. *Q. Jl. microsc. Sci.* 96,
539-544.

NEWELL (B.S.) - 1953 - Cellulolytic activity in the lamellibranch crys-
talline style. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, 32, 491-495.

OWEN (G.) - 1955 - Observations on the stomach and digestive diverticula
of the Lamellibranchia I. The Anisomyaria and Eulamelli-
branchia. *Q.J. microsc. Sc.*, 96, 517-537.

OWEN (G.) - 1956 - Observations on the stomach and digestive diverticula
of the Lamellibranchia II. the Nuculidae. *Q.J. microsc.*
Sci., 97, 541-567.

OWEN (G.) - 1970 - The fine structure of the digestive tubules of the
marine bival *Cardium edule*. *Phil. Trans. Roy. Soc, B*, 258,
245-260.

OWEN (G.) - 1972 - Lysosomes, peroxisomes and bivalves. *Science Progress*,
60, 299-318.

PAL (S.G.) - 1972 - The fines structures of the digestive tubules of *Mya*
arenaria. *Proc. Mal. Soc. Lond.*, 40 (3), 161-170.

- PASTEELS (J.J.) - 1964 - La fécondation étudiée au microscope électronique. Etude comparative. *Bull. Soc. Zool. France*, 40 (1), 195.
- PAULMIER (G.) - 1972 - Seston - Phytoplancton et microphytobenthos en rivière d'Auray, leur rôle dans le cycle biologique des huîtres (*Ostrea edulis* L.). *Rev. trav. Inst. Pech. Marit.*, 36, (4), 375-499.
- PEQUIGNAT (E.) - 1973 - A Kinetic and Autoradiographic Study of the Direct Assimilation of Amino Acide and glucose by Organs of the Mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 19, 227-244.
- PLANTEVIN (G.) et NARDON (P.) - 1972 - Utilisation d'une microméthode de détection pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'insectes. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 4, (2), 229-248.
- POUVREAU (B.) - 1974 - Cycle sexuel de *Mytilus edulis* L. dans la région du Havre. *Rapport E.D.F. Le Havre*.
- PRIEUR (D.) - 1971 - Recherches bibliographiques sur le développement embryonnaire des mollusques bivalves. *Diplôme d'Etudes Approfondies. Faculté des Sciences, Paris*.
- PRIEUR (D.) - 1974 - Les bactéries associées aux élevages de larves de Bivalves marins. *Thèse de 3e cycle. Brest*.

- PUJOL (J.P.) - 1967 - Formation of the byssus in the common mussel (*Mytilus edulis* L.). *Nature, Lond.*, 214, 204-205.
- Mc QUISTON (R.W.) - 1970 - Fine structure of the gastric shields in the lamellibranch bivalve, *Lasea rubra* (Montagu). *Pro. malacol. Soc. Lond.*, 39, 69-76.
- RAIMBAULT (R.) - 1966 - Plancton et Coquillages. In : Elements de planctologie appliquée. *Rev. Trav. Inst. Scient. techn. pêches mari.*
- RANSON (G.) - 1960 - Les prodissoconques (coquilles larvaires) des Ostréidés vivants, *Bull. Inst. Oceanogr. Monaco*, 57, (1183), 1-42.
- REES (C.) - 1950 - The identification and classification of lamellibranch larvae. *Hull. Bull. Mar. Ecol.*, 3, (19), 73-104.
- REYNOLDS (E.S.) - 1963 - The use of lead citrate of high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 208-212.
- RICE (E.) - 1908 - Gill development in *Mytilus*. *Biol. Bull.*, 14.
- RICHARDSON (R.C.), JARRET (L.) et FINKE (E.H.) - 1960 - Embedding in epoxy resins for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain technol.*, 35, 313-330.

- SANTOLINI (U.) et HOPTON (J.W.) - 1972 - Detritus and its role in aquatic ecosystems. *Proc. IBP. UNESCO Symp. Mem. Ist. Italiana. Idrob.*, 29.
- SASTRY (A.N.) - 1965 - The development and external morphology of pelagic larval and post-larval stages of the bay Scallop, *Aequipecten irradians concentricus* Say, reared in the laboratory. *Bull. Mar. Sci.*, 15 (2), 417-435.
- SAUVAGEOT (M.) - 1973 - Contribution à la microbiologie des protéines d'origine unicellulaire. *Thèse d'Université - Caen*.
- SEED (R.) - 1972 - Morphological variations in *Mytilus* from the French coasts in relation to the occurrence and the distribution of *Mytilus galloprovincialis* L.M.K. *Cah. Biol. Mar. Roscoff*, 13 (3), 357-384.
- SEED (R.) - 1973 - Morphological variations in Irish *Mytilus*. *Cah. Biol. Mar.*, *Roscoff*, 15 (1), 1-25.
- SMYTH (J.D.) - 1954 - A technique for the histochemical demonstration of poly phenol oxydase and its application to egg-shell formation in Helminths and byssus formation in *Mytilus*. *Quart. J. Micr.*, 95, 139-152.
- SULLIVAN (C.M.) - 1948 - Bivalve larvae of Malpeque Bay. *P.E.I. Fish. Res. Bd. Can.*, 77, 1-36

- SUMNER (A.T.) - 1966 - The fine structure of the digestive gland cells of *Anodonta*. *J.R. microsc. Soc.* 85, 417-423.
- THOMPSON (R.J.), RATCLIFFE (N.A.) et BAYNE (B.L.) - 1974 - Effects of starvation on structure and function in the digestive gland of the mussel (*Mytilus edulis* L.) *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 54 (3), 699-712.
- TUBIASH (H.J.), CHANLEY (P.E.) et LEIFSON (E.) - 1965 - Bacillary necrosis, a disease of larval and juvenile bivalve mollusks. 1. Etiology and Epizootiology. *J. Bact.*, 90, 1036-1044.
- UKELES (R.) - 1961 - The effect of temperature on the growth and survival of several marine algal species. *Biol. Bull.*, 120 (2), 255-264.
- UKELES (R.) - 1969 - Nutritional requirements in shell fish culture. *Proc. conf. Art. Propag. Commercial valuable shellfish*, 43-64.
- WALNE (P.R.) - 1956 - Experimental rearing of the larvae of *Ostrea edulis* L. in the laboratory. *Fish. Invest. Min. Agric. Fish. Food, Lond. Ser.*, II, 20, 1-23.
- WALNE (P.R.) - 1958 - The importance of bacteria in laboratory experiments on rearing the larvae of *Ostrea edulis*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 37, 415-425.

WALNE (P.R.) - 1966 - Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fishery Invest.*, Lond. (Ser. 2), 25 (4), 1-53.

WALNE (P.R.) - 1970 - Present problems in the culture of the larvae of *Ostrea edulis*. *Helgö. wiss. Meer.*, 20, 514-525.

WERNER (B.) - 1939 - Über die Entwicklung und Artunterscheidung von Muschellarven des Nordsee planktons unter besonderen Berücksichtigung der Schalenentwicklung. *Zool. Jb. Abteilung Anatomie und Ontogenie*, 66, 1-54.

WILSON (J.) - 1886 - On the development of the common mussel (*Mytilus edulis* L.) *Fifth Annual Report of the Fishery Board for Scotland for 1886*, App. F, 6, 247-256.

WILSON (D.P.) et ARMSTRONG (F.A.J.) - 1958 - Biological differences between sea waters : experiments in 1954 and 1955. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 37, 331-348.

YONGE (C.M.) 1926 - The digestive diverticula in the lamellibranchs. *Trans. R. Soc. Edinb.*, 54, 703-718.

VU 1^e PRESIDENT DE JURY
CAEN, 1^e

VU 1^e DIRECTEUR de l'U.E.R.
CAEN, 1^e

VU et PERMIS d'IMPRIMER en référence
à la délibération du Conseil de l'Université
en date du 14/12/1973.

LE PRESIDENT

CAEN, 1^e

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ DE CAEN
(U.E.R. DES SCIENCES DE LA VIE
ET DU COMPORTEMENT)

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

DOCTEUR DE SPÉCIALITÉ (3^e CYCLE)
EN BIOLOGIE ANIMALE

PAR

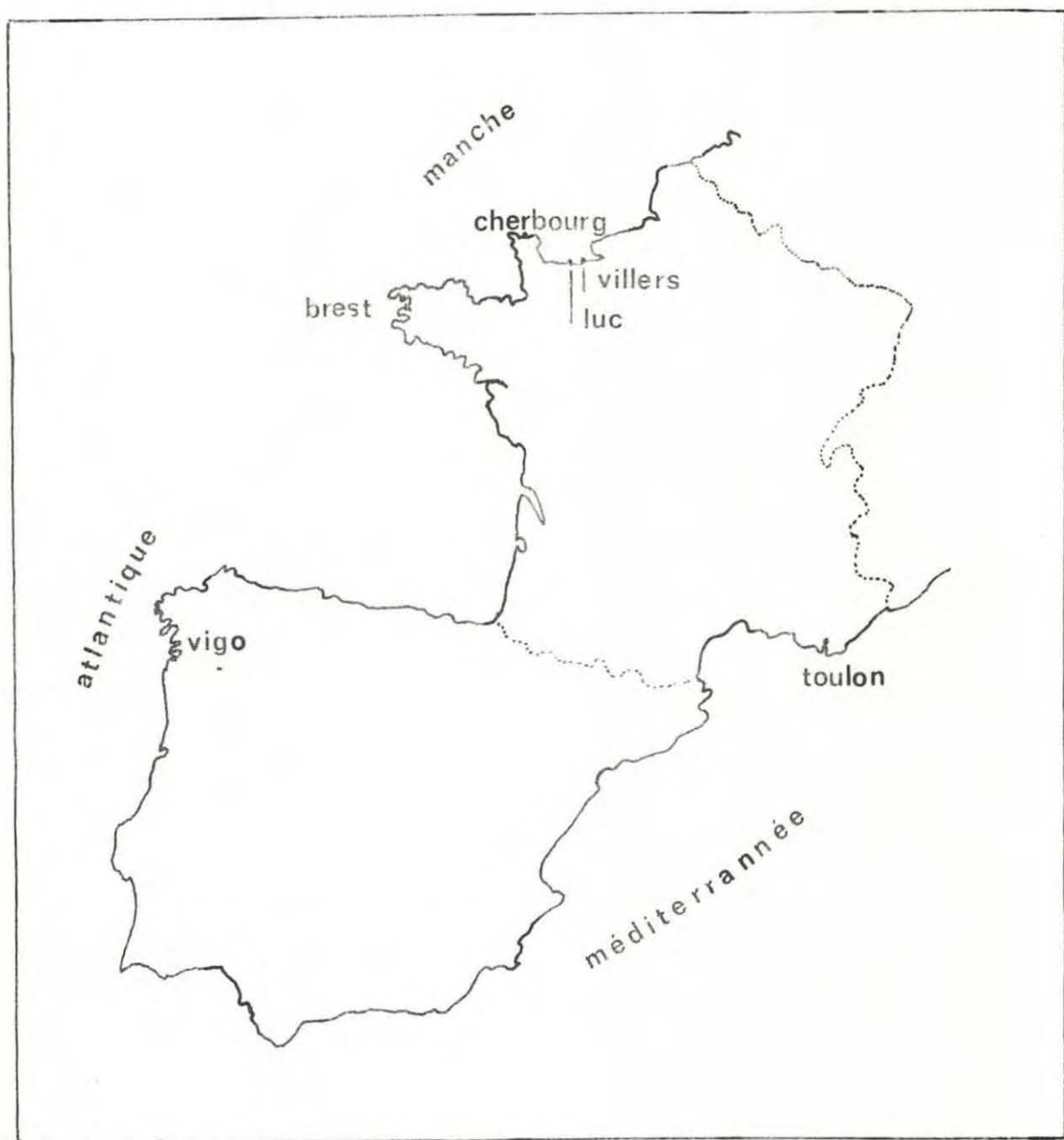
Michel MASSON

Etude expérimentale de la croissance et de la nutrition de *Mytilus*
galloprovincialis (LMK) (Mollusque pélécy-pode)

TOME II : FIGURES ET PLANCHES

Soutenue le 15 mars 1975, devant la Commission d'Examen :

M. P. LUBET,	<i>Président</i>	
M. W. STREIFF,	}	<i>Examineurs</i>
M. A. LUCAS,		
M. J. ANCELLIN,		<i>Membre invité</i>



A

STATIONS DE PRELEVEMENT
DES GENITEURS

- PLANCHE 2 -

Fig. A - *Mytilus edulis*.

Fig. B - *Mytilus galloprovincialis*.

Fig. C - Disposition des insertions musculaires sur la coquille de *Mytilus galloprovincialis*.

ma : muscle adducteur antérieur

mp : muscle adducteur postérieur

rab : rétracteur antérieur du byssus

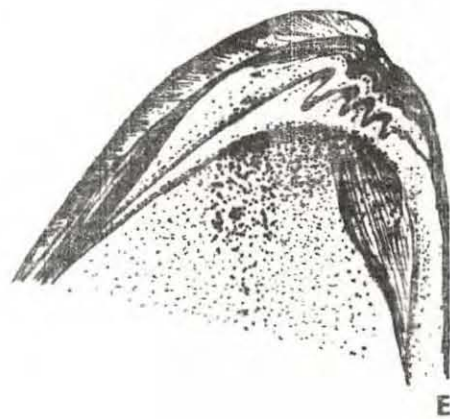
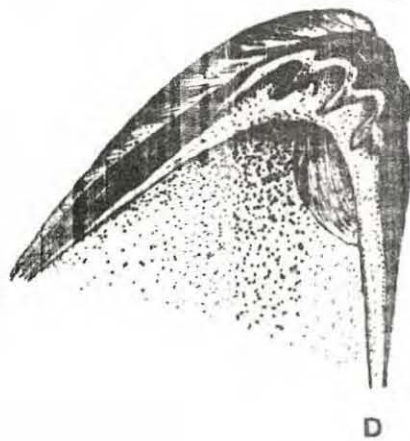
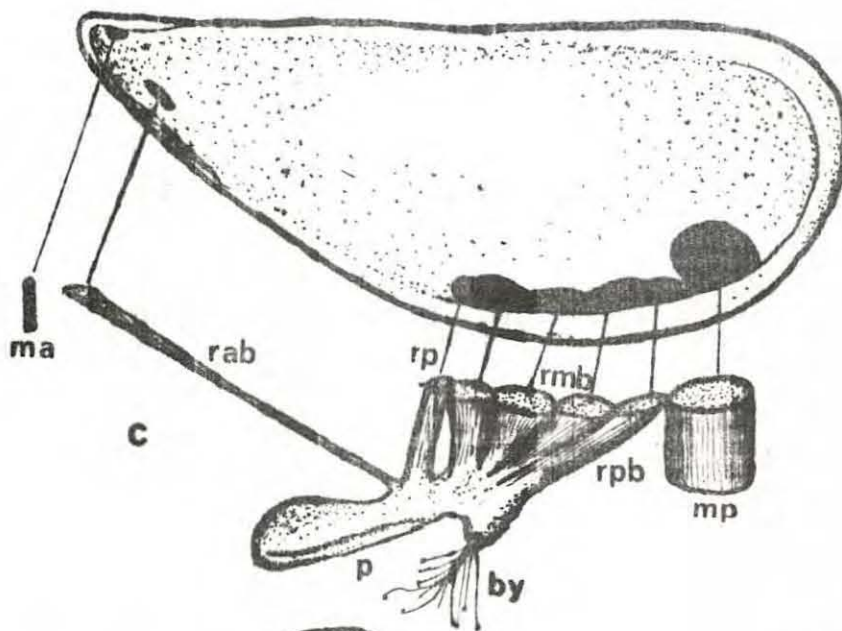
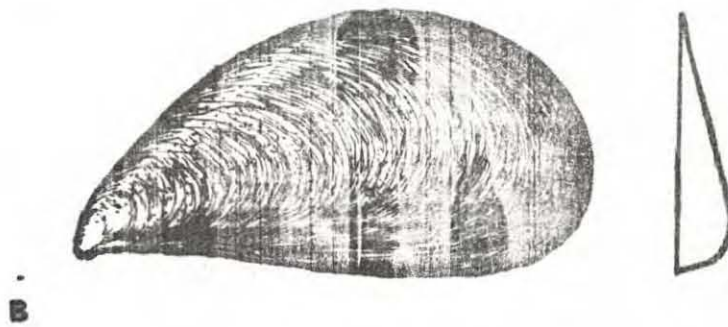
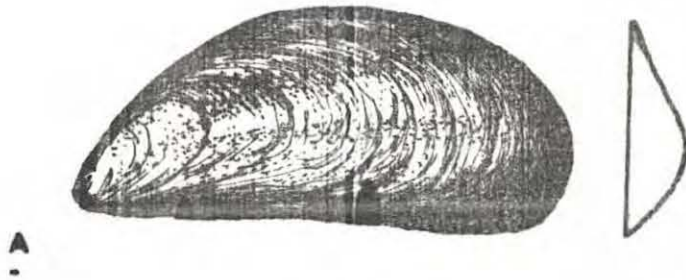
rmb : rétracteurs moyens du byssus

rpb : rétracteurs postérieurs du byssus

rp : rétracteur du pied

Fig. D - Charnière de la valve gauche de *Mytilus galloprovincialis*.

Fig. E - Charnière de la valve gauche de *Mytilus edulis*.



- PLANCHE 3 -

Embryogenèse

Fig. 1 - Spermatozoïde

Fig. 2 - Ovocyte

Fig. 3 - Oeuf fécondé

Fig. 4 - Emission du 1^o globule polaire

Fig. 5 - Emission du 2^e globule polaire et émission
du lobe polaire

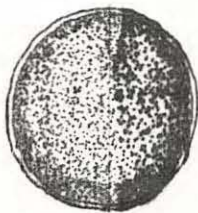
Fig. 6, 7, 8 - Première division en deux blastomères
inégaux : AB et CB.



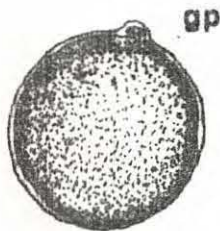
1



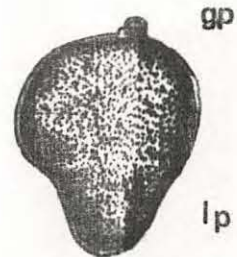
2



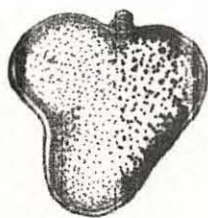
3



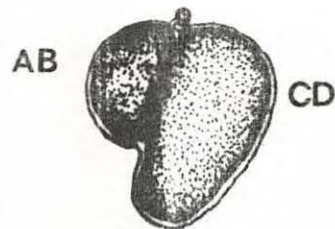
4



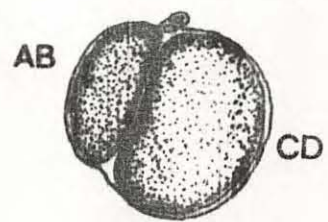
5



6



7



8

- PLANCHE 4 -

Embryogenèse

Fig. 9 - Deuxième division - A. B. C. : micromères
D : macromère

Fig. 10 et 11 - Clivage spiral et inégal

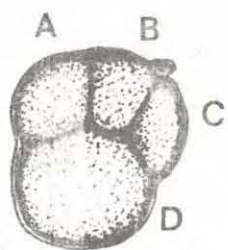
Fig. 12, 13, 14 - Gastrulation par épibolie des micromères
sur les macromères

Fig. 15, 16, 17 - Passage de la gastrule à la trochophore

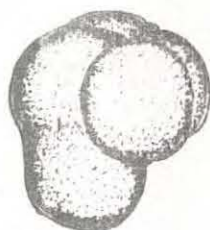
b : blastophore

f : flagellum

cq : émission de la première coquille
(prodissoconque).



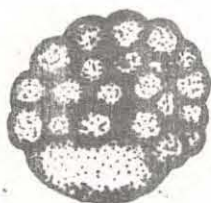
9



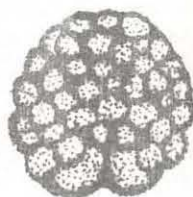
10



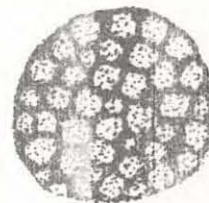
11



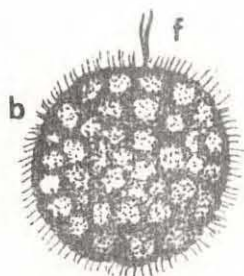
12



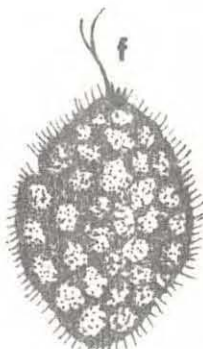
13



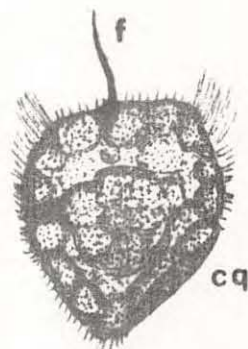
14



15



16



17

- PLANCHE 5 -

Organogenèse (Trochophore - Larve "D").

a : anus

b : bouche

es : estomac

f : flagellum

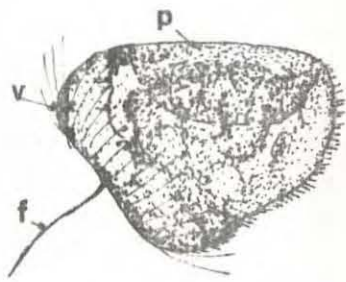
gd : glande digestive

id : intestin direct

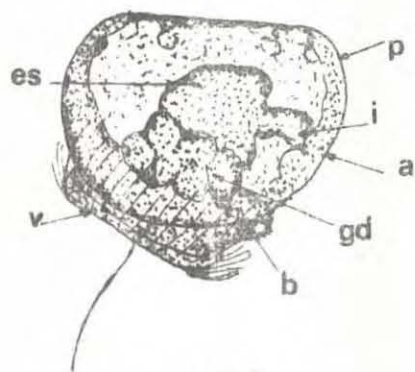
ir : intestin récurrent

p : prodissoconque

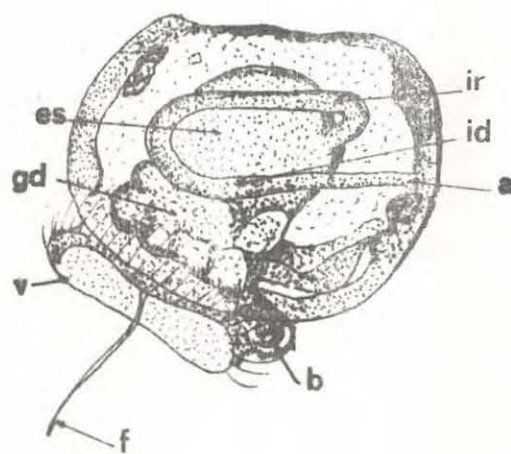
v : velum



trochophore



larve "D"

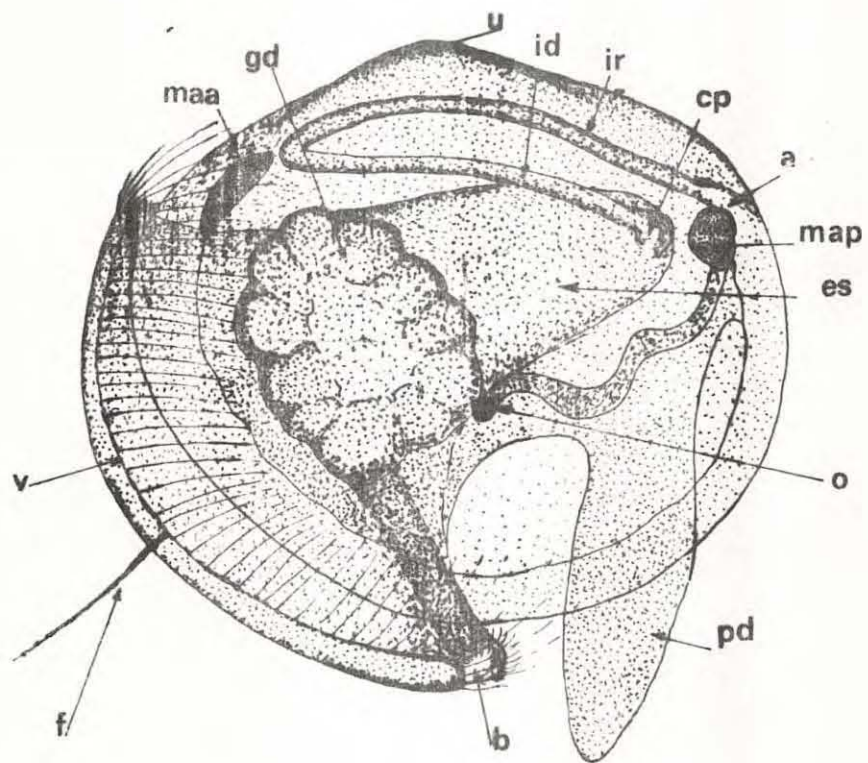
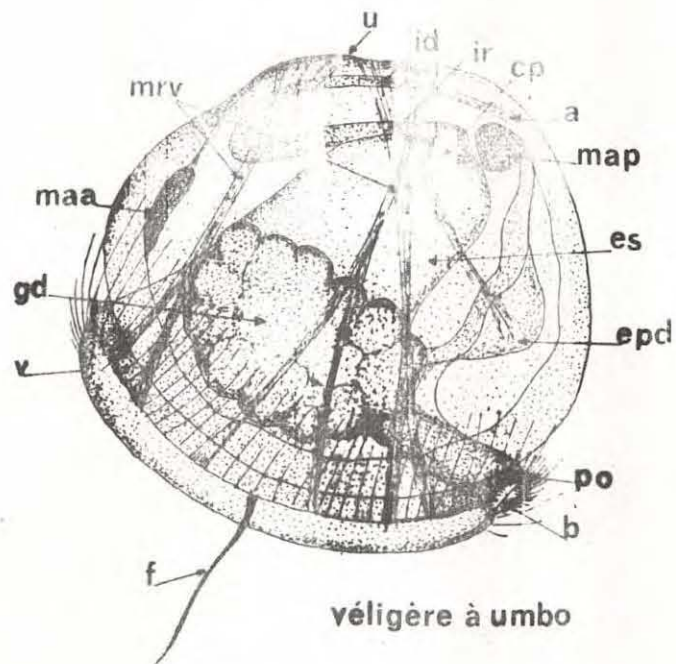


larve "D"

- PLANCHE 6 -

Organogenèse (Véligère à umbo - Véligère oeilée)

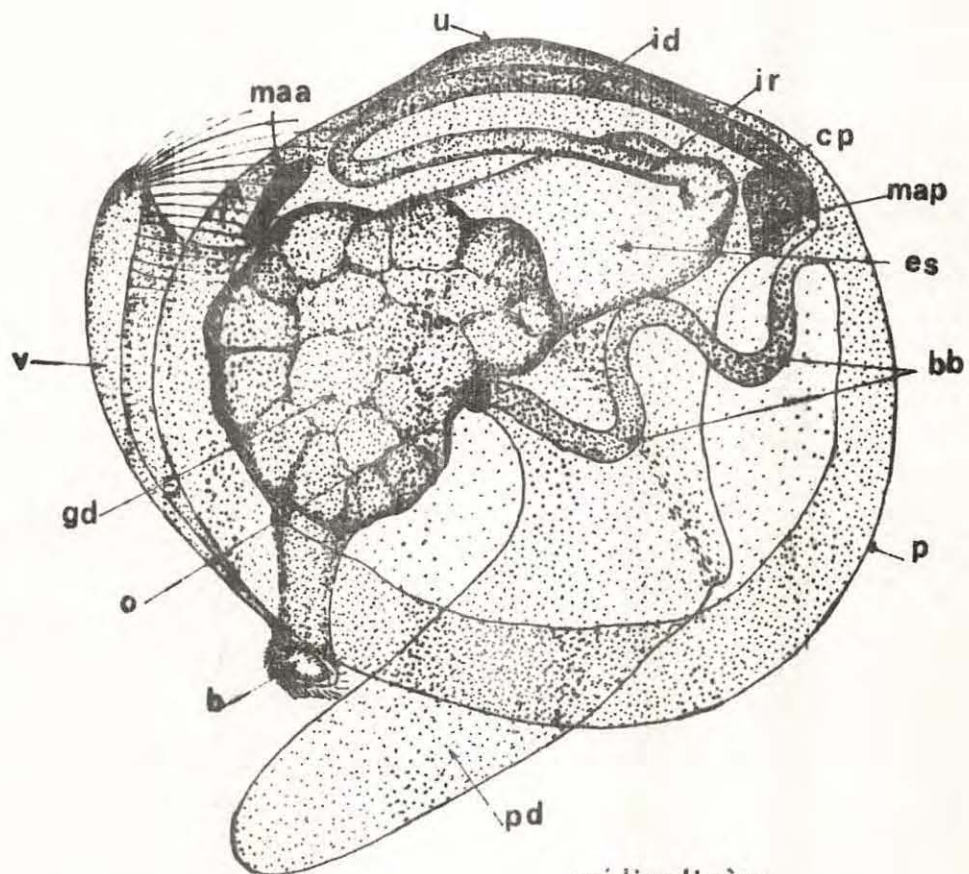
- a : anus
- b : bouche
- cp : chambre postérieure
- epd : ébauche du pied
- es : estomac
- f : flagellum
- gd : glande digestive
- id : intestin direct
- ir : intestin récurrent
- maa : muscle adducteur antérieur
- map : muscle adducteur postérieur
- mrsv : muscle rétracteur du velum
- o : oeil
- pd : pied
- u : umbo
- v : velum



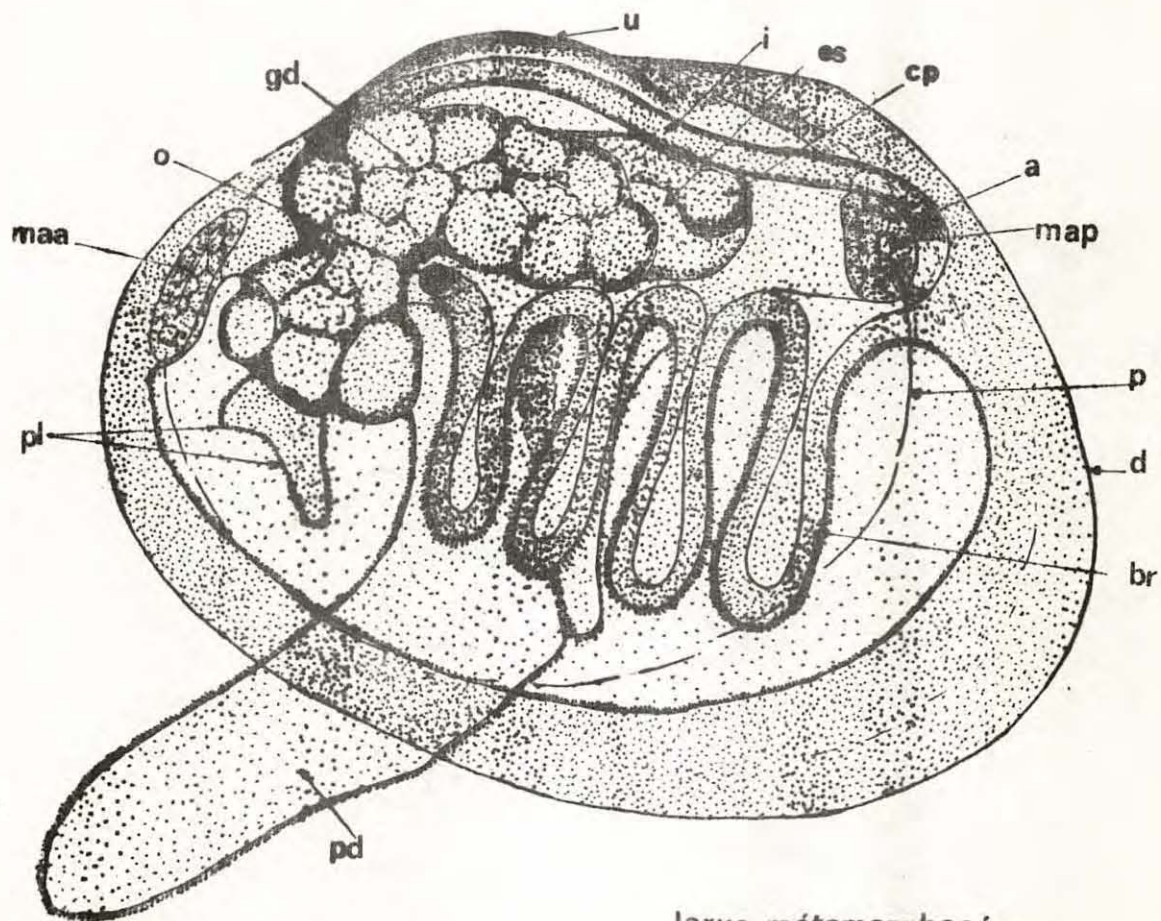
- PLANCHE 7 -

Organogenèse (Pédivéligère - larve métamorphosée)

- a : anus
- b : bouche
- bb : bourgeons branchiaux
- br : branchies
- cp : chambre postérieure
- d : dissoconque
- es : estomac
- gd : glande digestive
- i : intestin
- id : intestin direct
- ii : intestin récurrent
- maa : muscle adducteur antérieur
- map : muscle adducteur postérieur
- o : oeil
- p : prodissoconque
- pl : palpes labiaux
- pd : pied
- u : umbo
- v : velum



pediveligère



larve métamorphosée

- PLANCHE 8 -

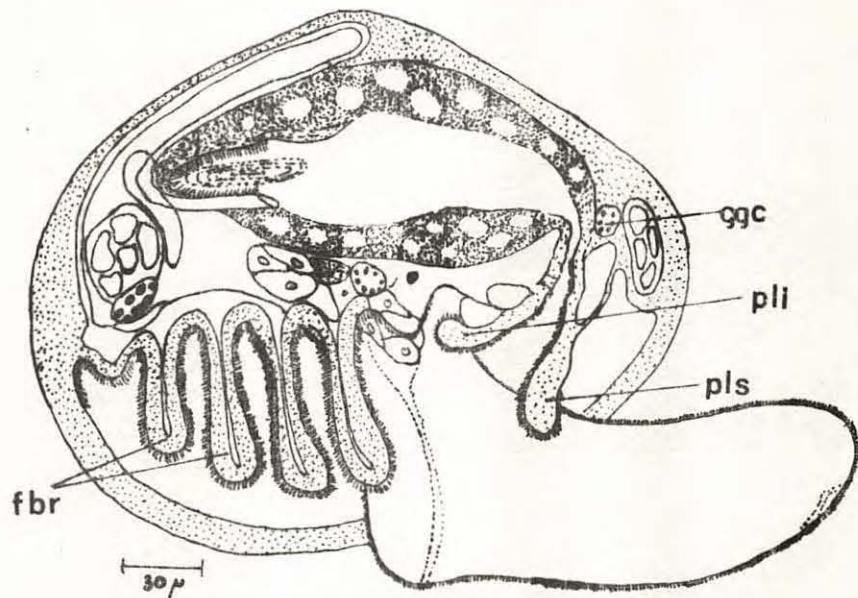
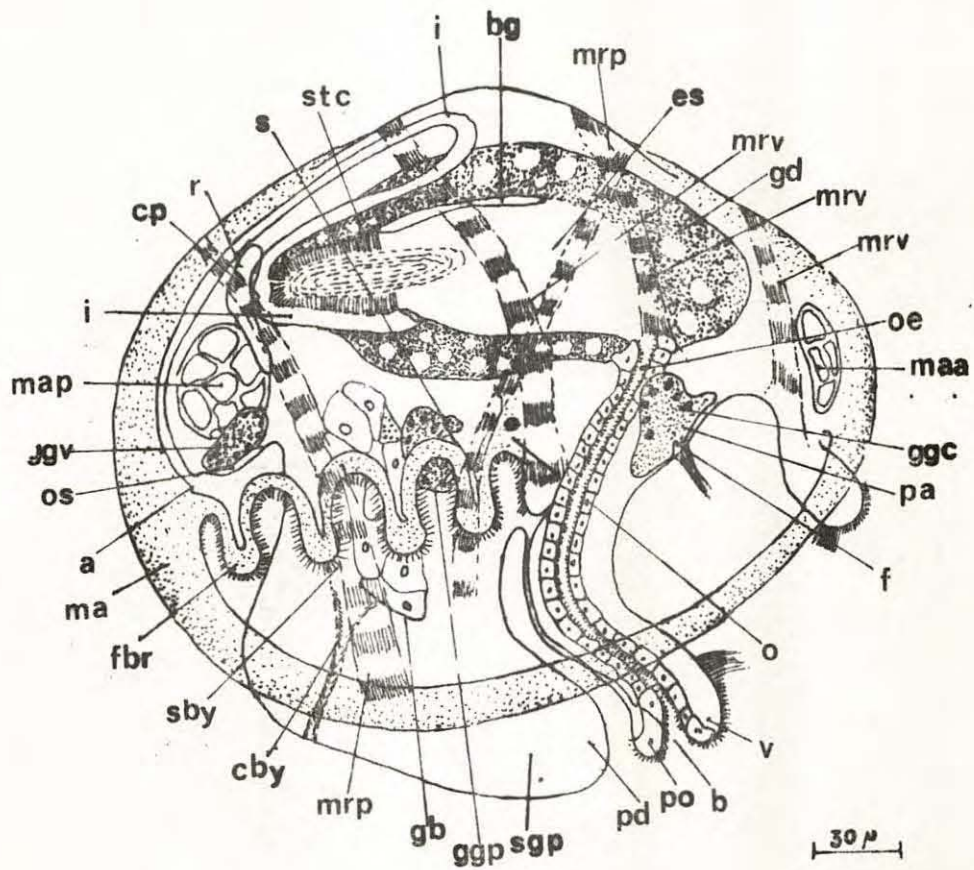
Métamorphose de *Mytilus edulis* d'après BAYNE (1970).

Reconstitution diagrammatique des organes en place.

A : Pédivéligère

B : Post-larve

a : anus	map : muscle adducteur postérieur
b : bouche	mrp : muscle rétracteur du pied
bg : bouclier gastrique	mrv : muscle rétracteur du velum
cby : canal byssogène	o : oeil
cp : chambre postérieure	os : osphadium
es : estomac	pa : plaque apicale
f : flagellum	pd : pied
fbr : filaments branchiaux	pli : palpe labial inférieur
gb : glande blanche	pls : palpe labial supérieur
gd : glande digestive	po : palpe oral
ggc : ganglions cérébroïdes	r : rein
ggp : ganglions pédieux	s : statocyte
ggv : ganglions viscéraux	sby : sac byssogène
i : intestin	sgp : sécrétion de la glande des phénols
ma : manteau	stc : sac de la tige cristalline
maa : muscle adducteur antérieur	v : velum



- PLANCHE 9 -

Types cellulaires de la glande digestive
chez *Cardium edule* d'après OWEN

A : Cellule sécrétrice

B : Jeune cellule immature

C : Cellule digestive

ag : appareil de Golgi

bt : barre terminale

cb : corps basal

ds : desmosome septé

f : flagelle (cil)

gv : vésicule golgienne

li : lipides

m : microvillosités

mi : mitochondries

n : noyau

p1, p2, p3, p4 : vacuoles digestives

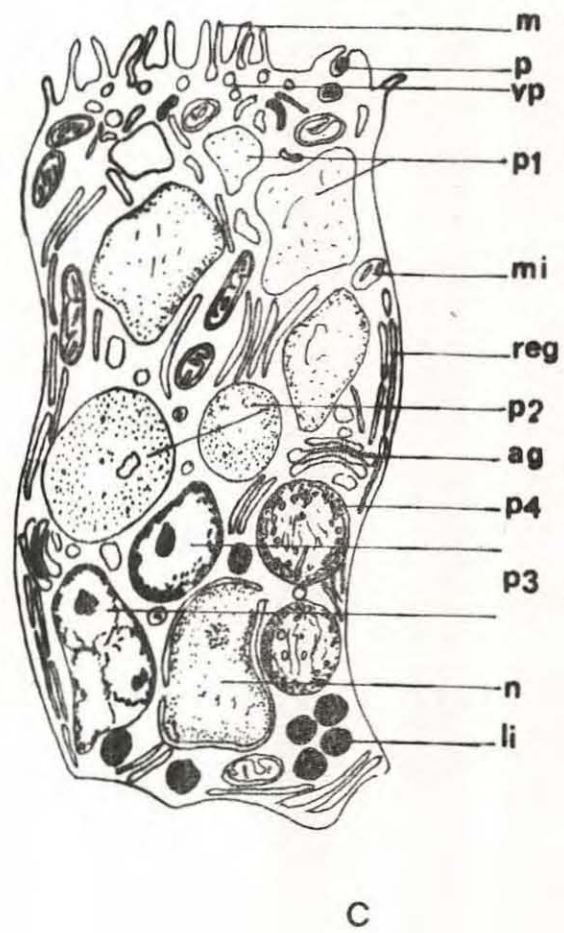
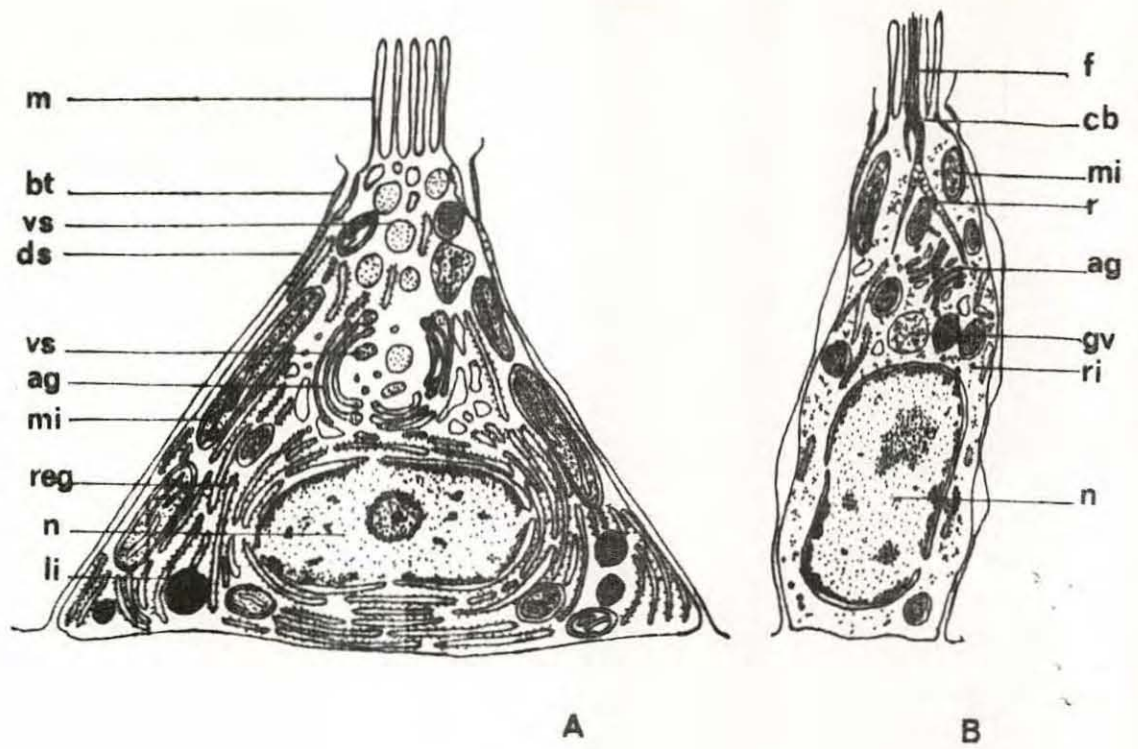
r : racines des cils

reg : réticulum endoplasmique granulaire

ri : ribosomes

vp : vésicule de pinocytose

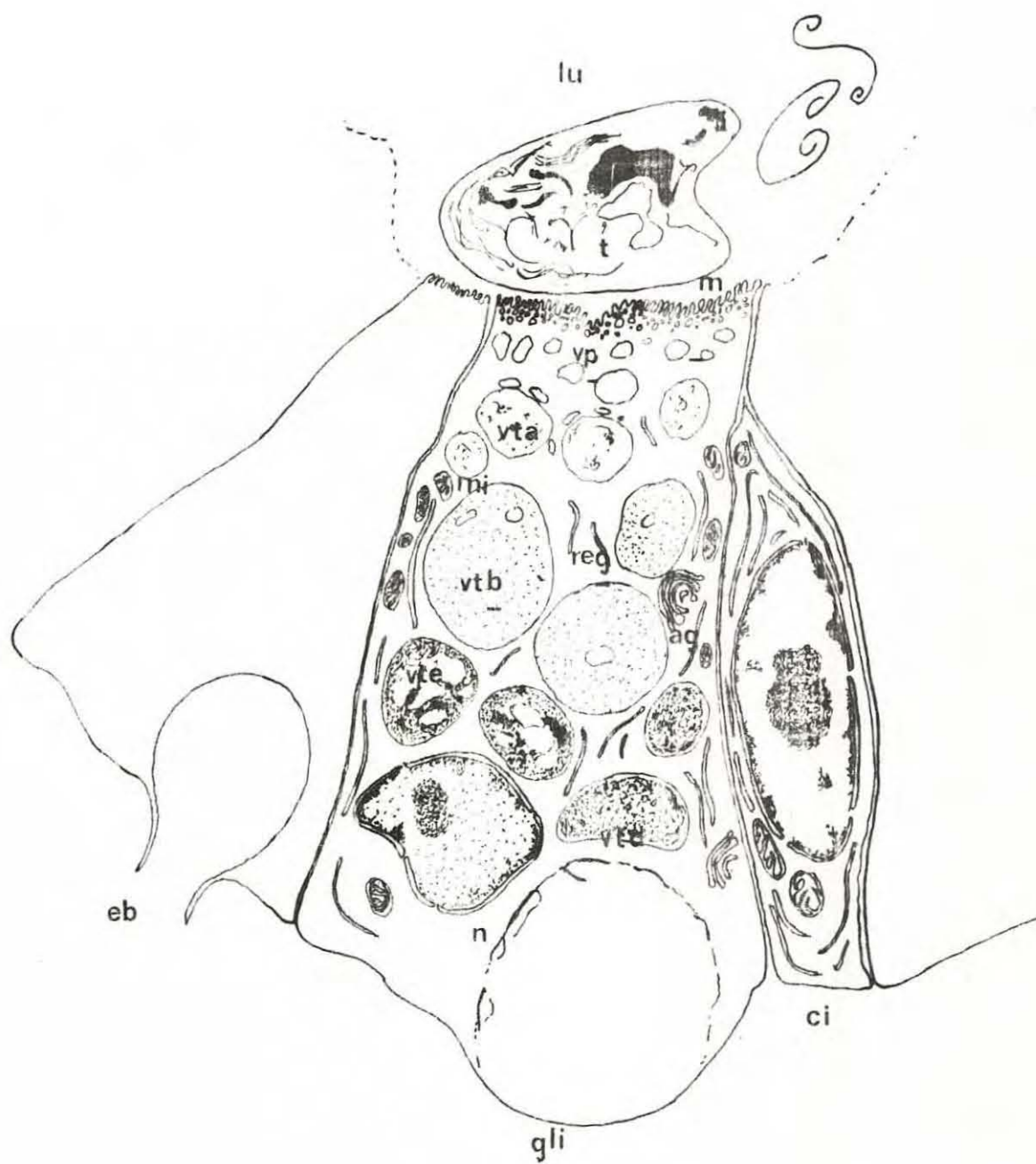
vs : vésicule de sécrétion.

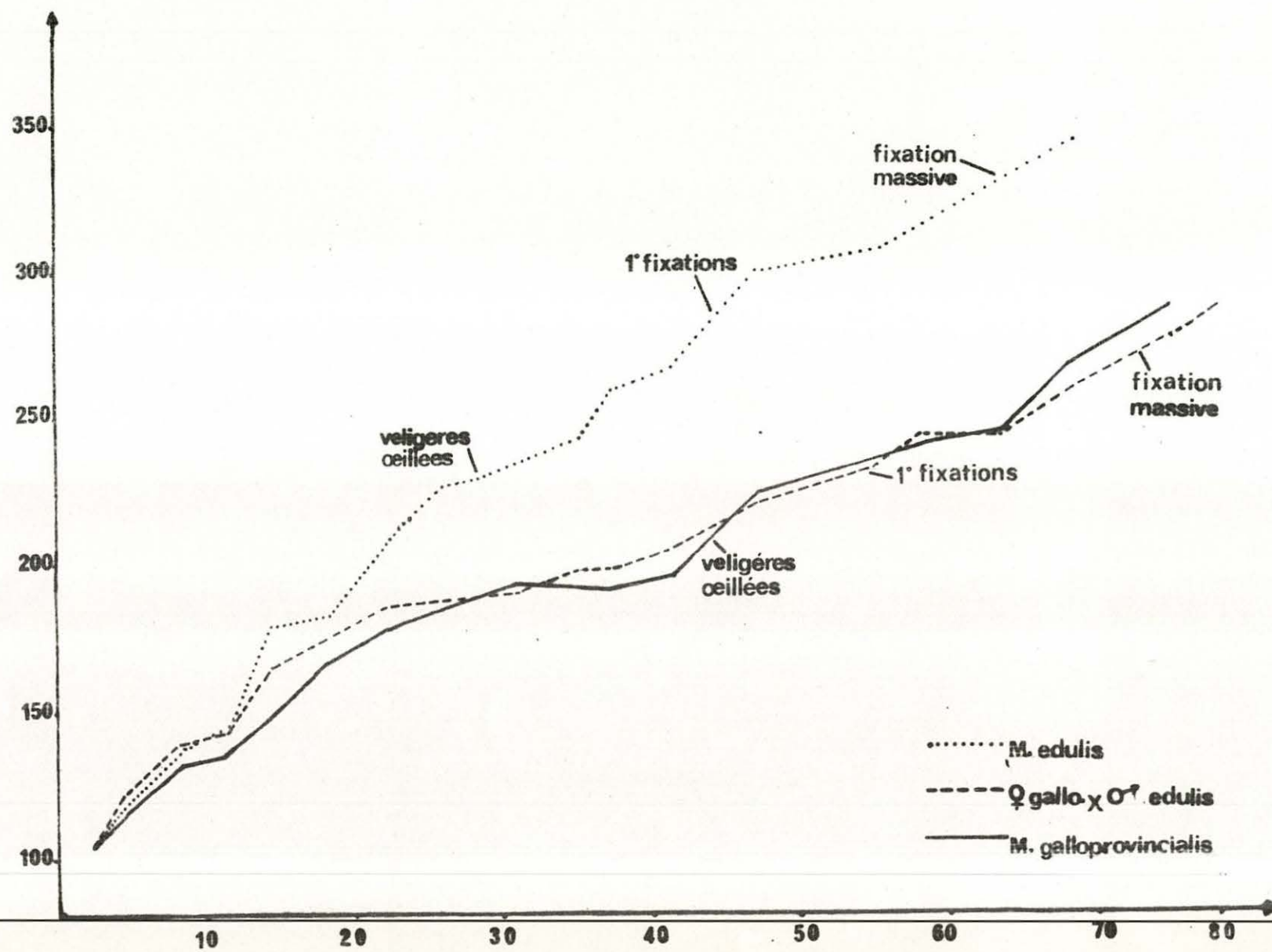


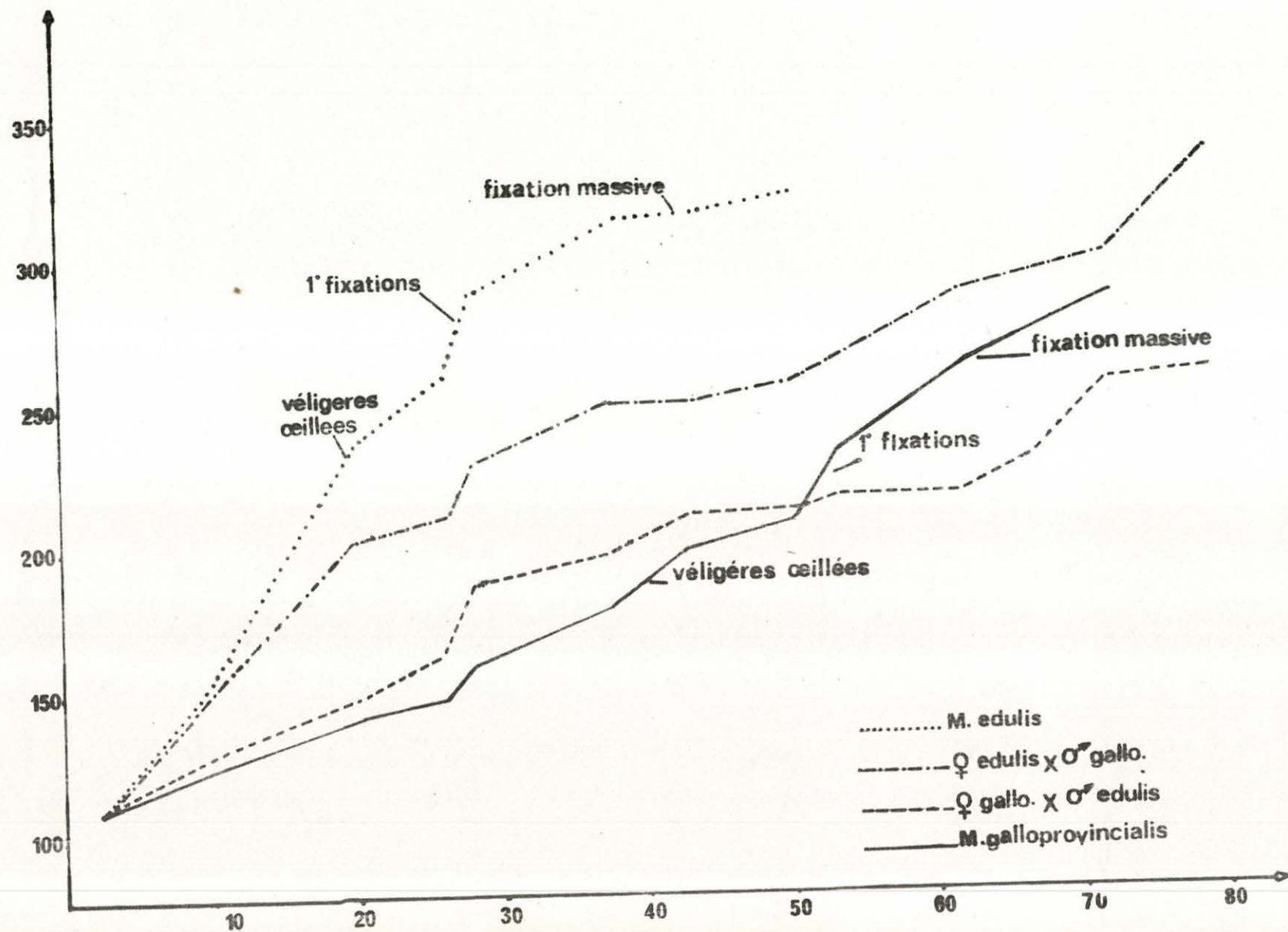
- PLANCHE 10 -

Schéma de la cellule digestive
chez la larve de *Mytilus galloprovincialis*

- ag : appareil de Golgi
- ci : cellule indifférenciée
- eb : exocytose basale
- gli : globule lipidique
- lu : lumière de la glande
- m : microvillosités
- mi : mitochondries
- n : noyau
- reg : réticulum entoplasmique granulaire
- t : *Tetraselmis* en cours de digestion
- vp : vésicules de pinocytose
- vta, vtb, vtc, vtd : vésicules digestives de type
a, b, c, d.







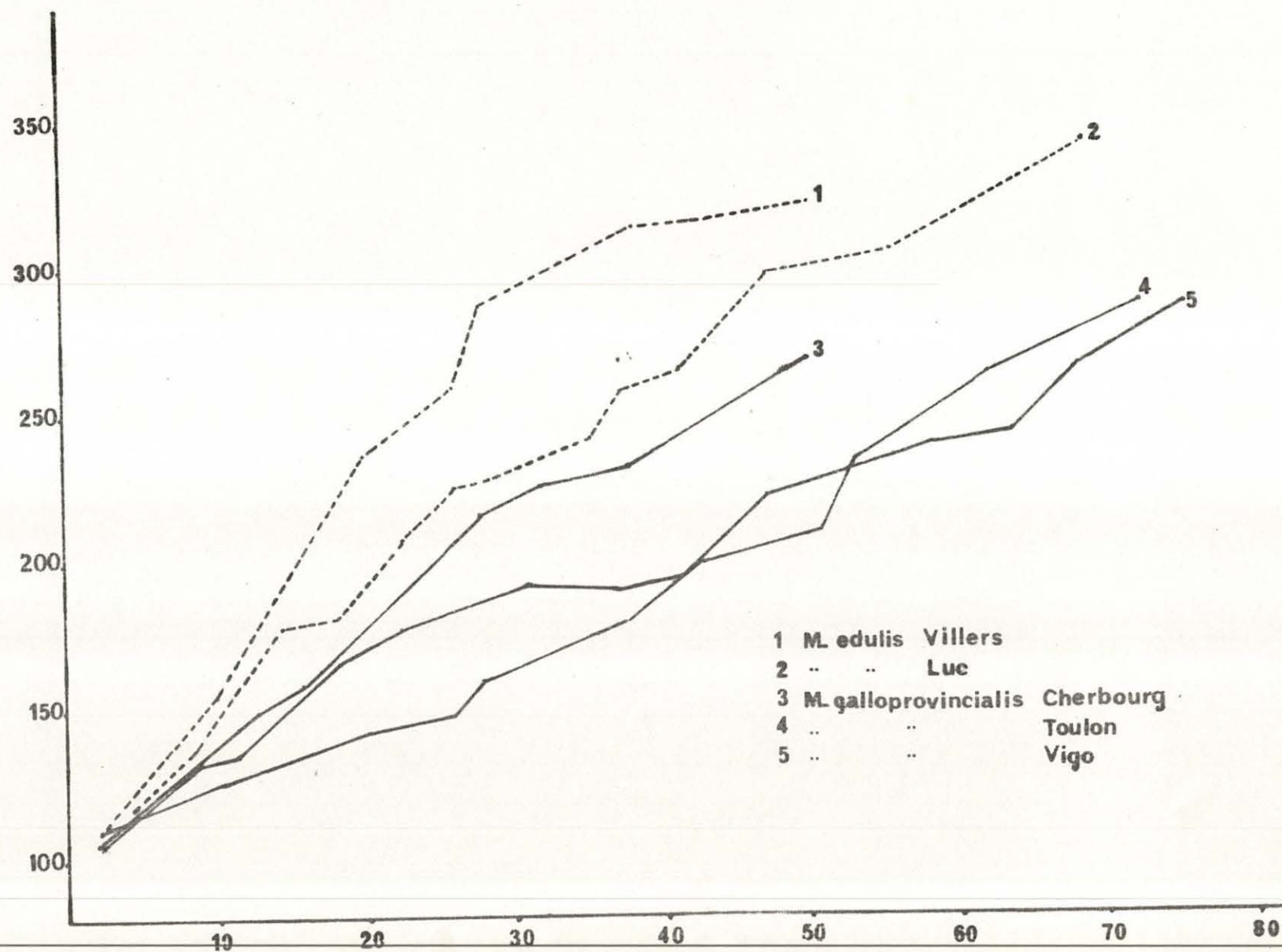
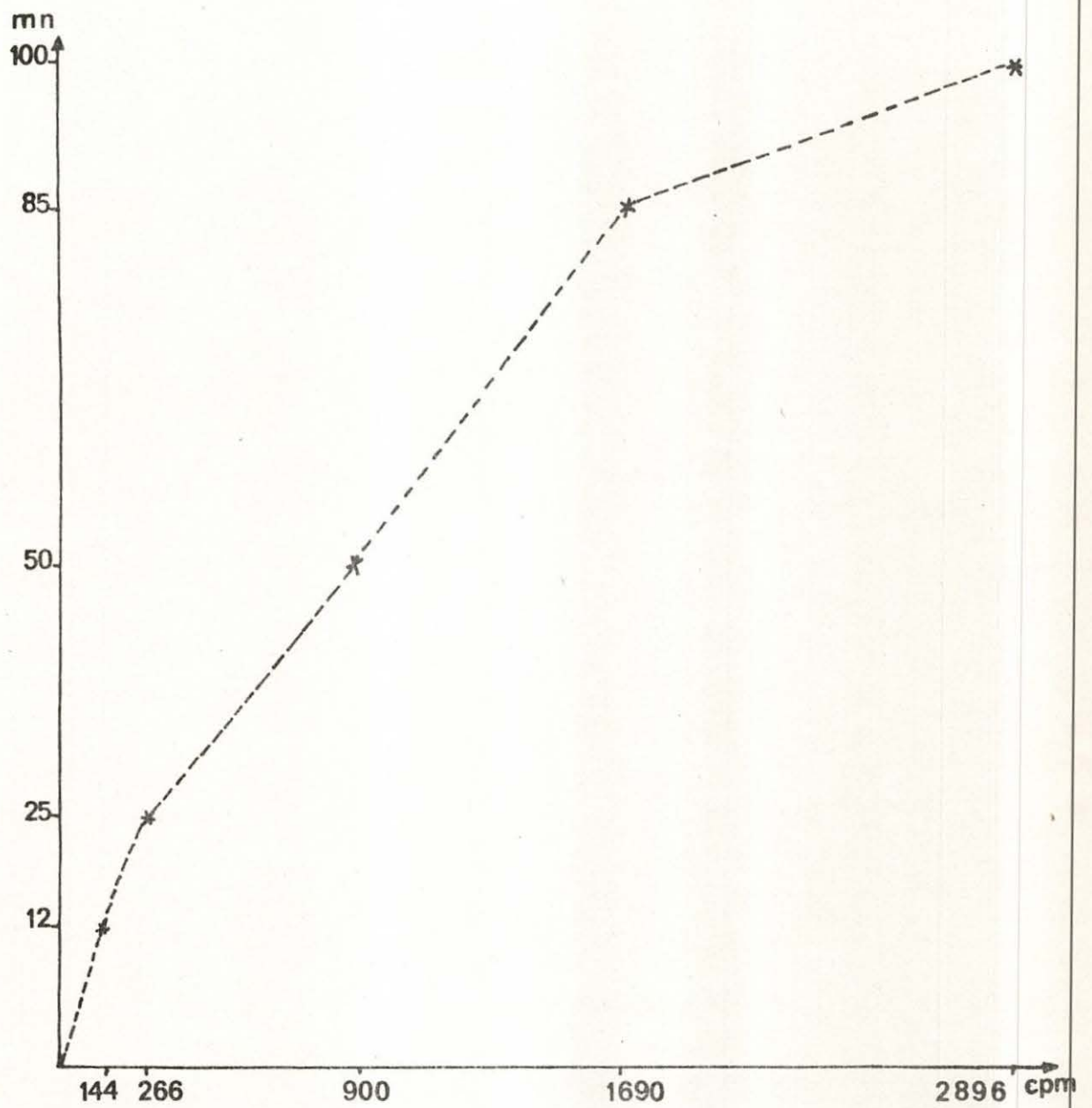


planche 14



INCORPORATION de LEUCINE H^3
par la larve veligere

- PLANCHE 15 -

Matériels

A : Salle de culture d'algues

- 1 : groupe de réfrigération
- 2 : sonde de thermorégulation
- 3 : compresseur d'air
- 4 : horloge réglant l'éclairage
- 5 : barillet de milieu de "CONWAY" frais
- 6 : ballons de 10 l. de culture

B : Culture d'algues

- 1 : inocula en tube à essais
- 2 : inocula en erlen meyers de 200 ml
- 3 : inocula en erlen meyers de 500 ml
- 4 : culture continue en ballon de 10 litres
- 5 : tuyauterie d'aération, de prélèvement et de remplissage

C : Stérilisation aux ultra-violets

- 1 : arrivée d'eau de mer sous pression
- 2 : filtres à sable
- 3 : chicane à ultra-violets

D : Stérilisation sur membrane

- 1 : air comprimé
- 2 : réservoir de surpression contenant l'eau à filtrer
- 3 : presse à filtre
- 4 : bidon de stockage d'eau de mer filtrée

- PLANCHE 16 -

- 1 - Ovocyte
- 2 - Emission du 1° globule polaire
- 3 - Emission du 2e globule polaire et du lobe polaire
- 4 - 1e division (2 cellules)
- 5 - 2e division (4 cellules)
- 6 - 3e division (6 cellules) inégale et dextrorotatoire
- 7 - Gastrulation
- 8 - Jeune trochophore en forme de toupie
- 9 - Trochophore
- 10 - Jeune larve D
- 11 - Larve D
- 12 - Véligère à umbo
- 13 - Véligère ocellée
- 14 - Pédivéligère
- 15 - Métamorphose
- 16 - Post-larve
- 17 - Jeune moule



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



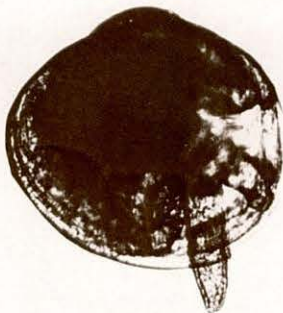
12



13



14



15



16



17

- PLANCHE 17 -

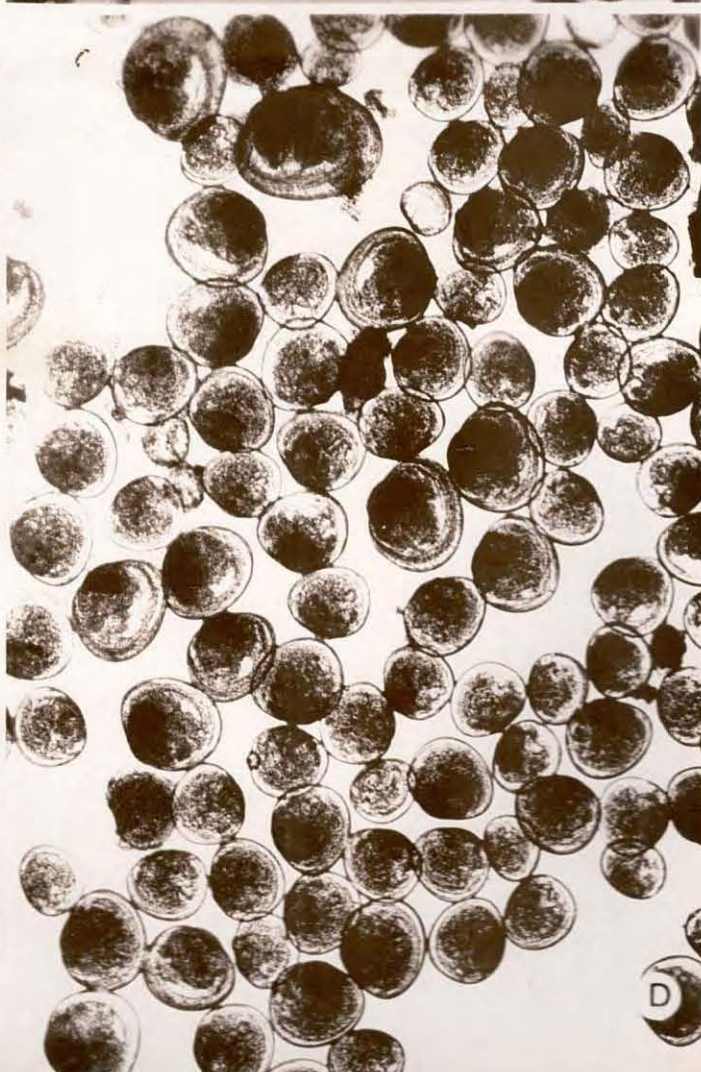
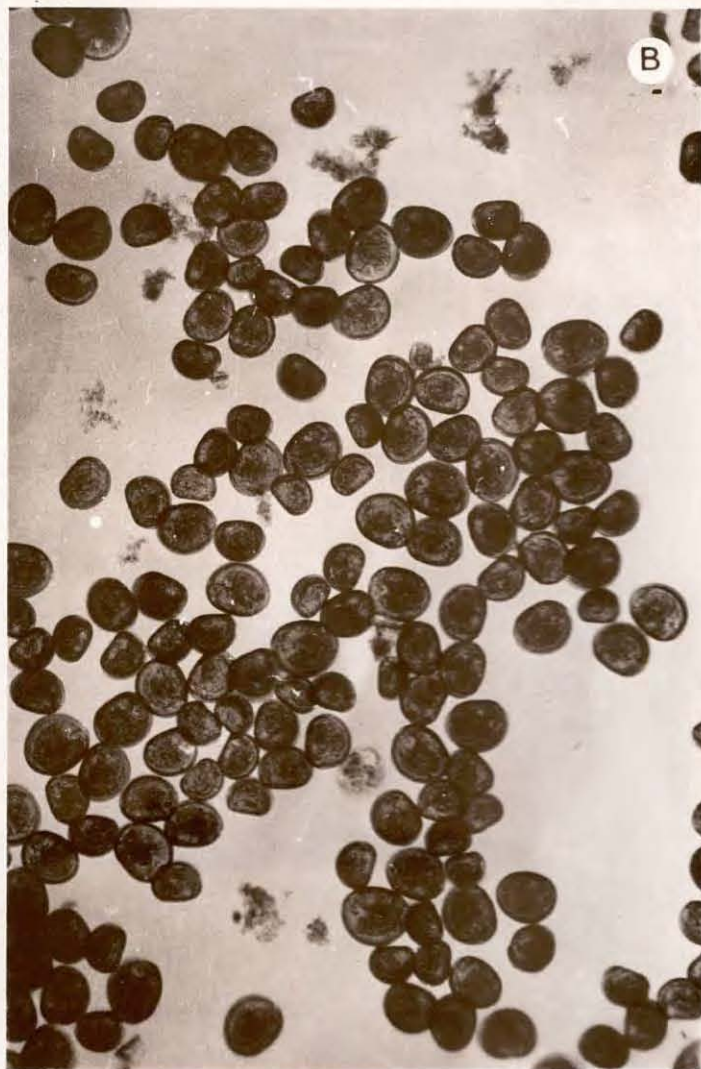
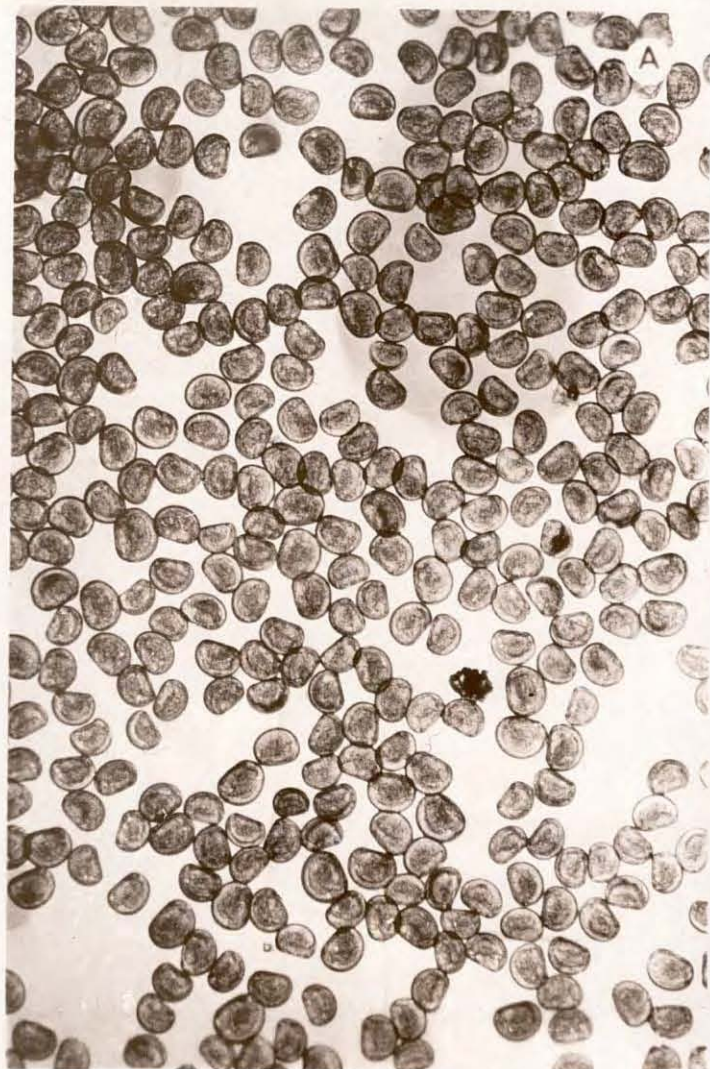
A : Larves D 48 Heures

B : Larves D + larves umbonnées 12 jours

C : Larves D + larves umbonnées + véligères oeuillées 25 jours

D : Larves D + larves umbonnées + véligères oeuillées
+ pédivéligères + larves métamorphosées (en haut) 50 jours

On note la grande variabilité de taille qui va croissant avec le temps.

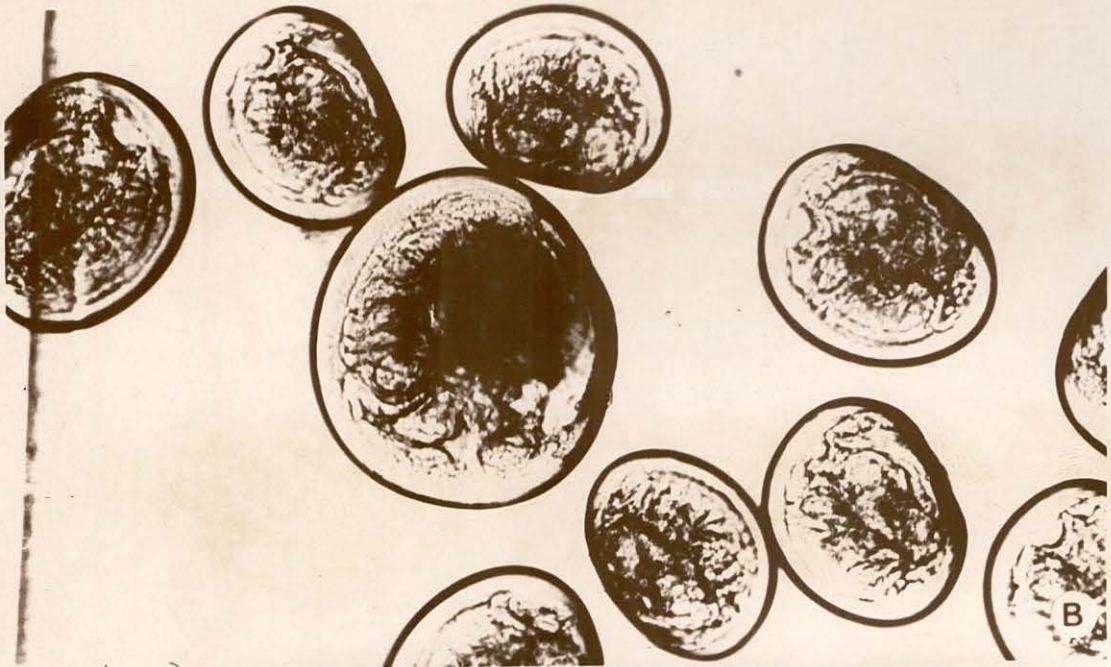


- PLANCHE 18 -

A : Larves D en extension

B : Larves umbonnées et une larve oeuillée

C : Larves métamorphosées. Changement de forme
(allométrie de croissance)



- PLANCHE 19 -

A : Electronographies d'un ovocyte pondu (X 12.000)

B : Détail du chorion

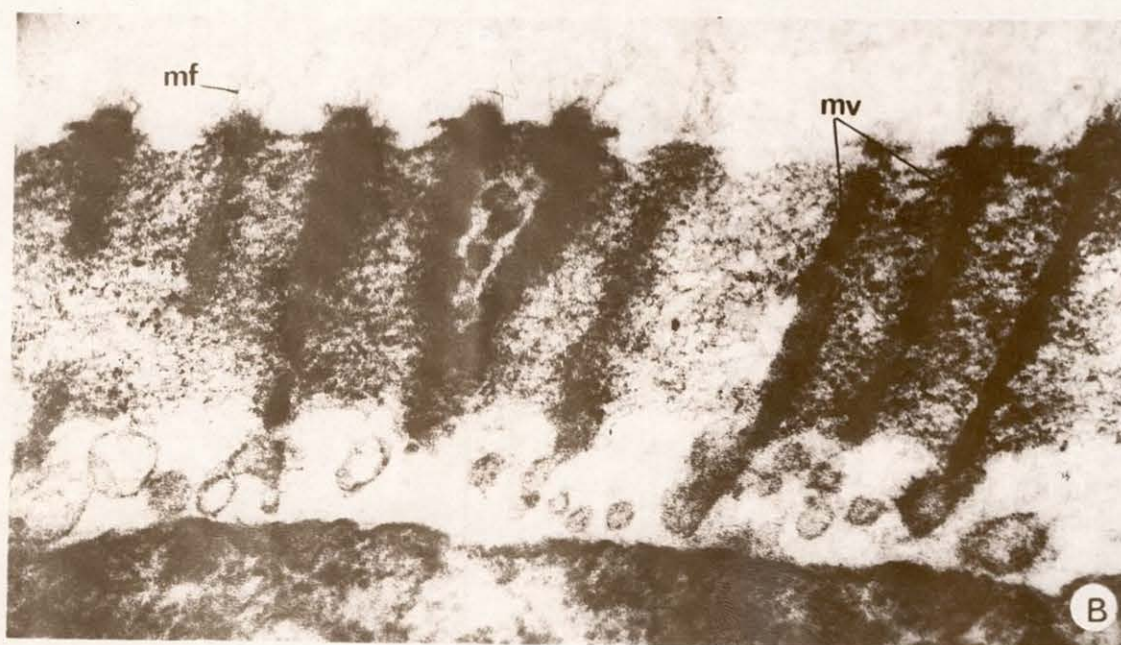
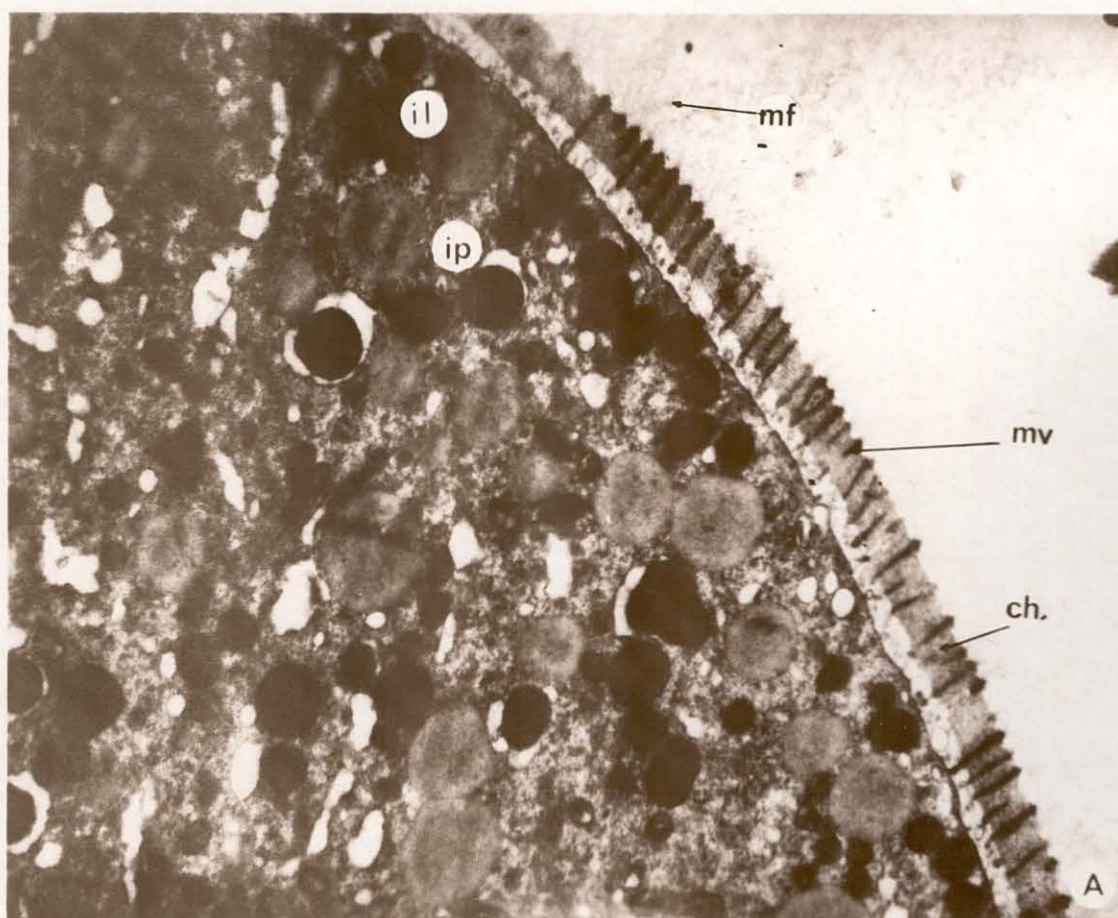
ch : chorion

il : inclusion lipidique

ip : inclusion protidique

mf : microfilaments

mv : microvillosités

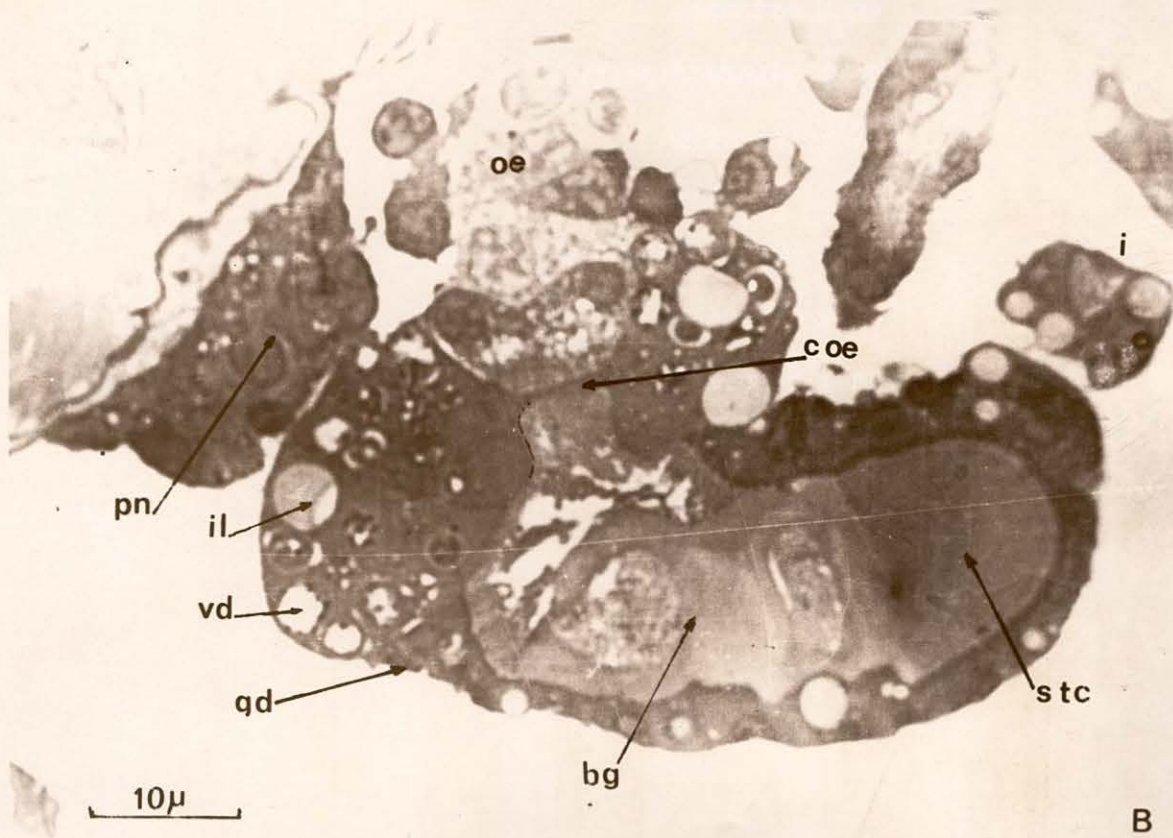
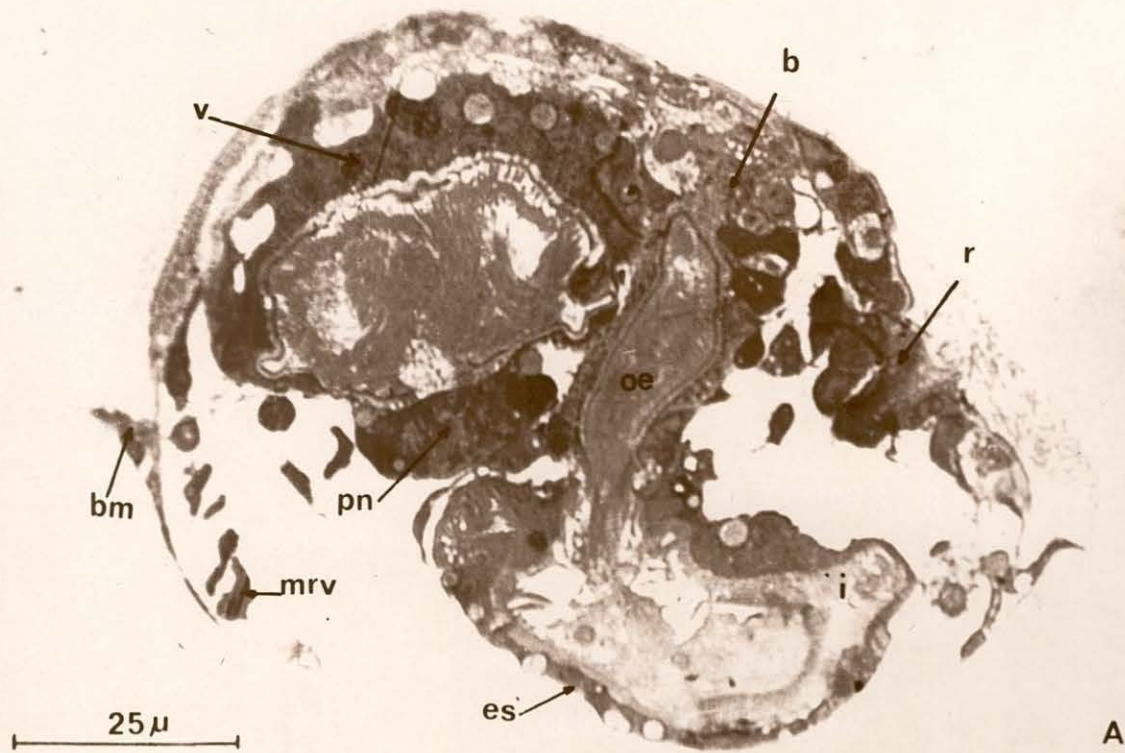


- PLANCHE 20 -

A : Coupe sagittale (semi-fine - coloration au RICHARDON)
d'une larve D

B : Détail de l'estomac

b : bouche
bg : bouclier gastrique
bm : bord du manteau
c oe : constriction oesophagienne
es : estomac
gd : glande digestive
i : intestin
il : inclusion lipidique
mrv : muscle rétracteur du velum
oe : oesophage
pn : plaque neurale
stc : sac de la tige cristalline
v : vélum
vd : vacuole digestive



- PLANCHE 21 -

Coupe transversale de larve "D"
(semi-fine - colorée au RICHARDSON)

bg : bouclier gastrique

c : charnière

es : estomac

gd : glande digestive

i : intestin

m : manteau

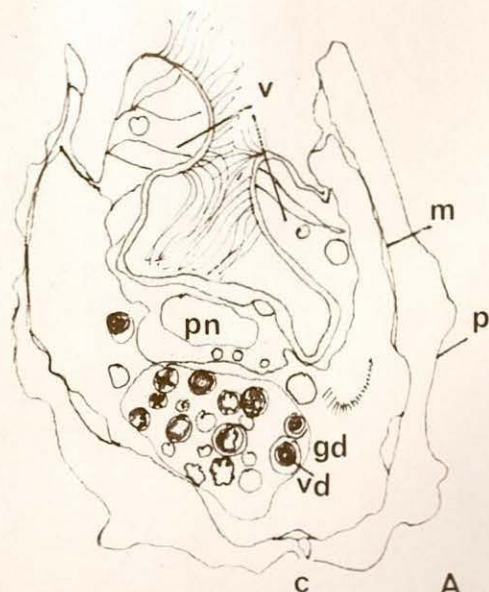
p : périostracum

pn : plaque neurale

vd : vacuole digestive



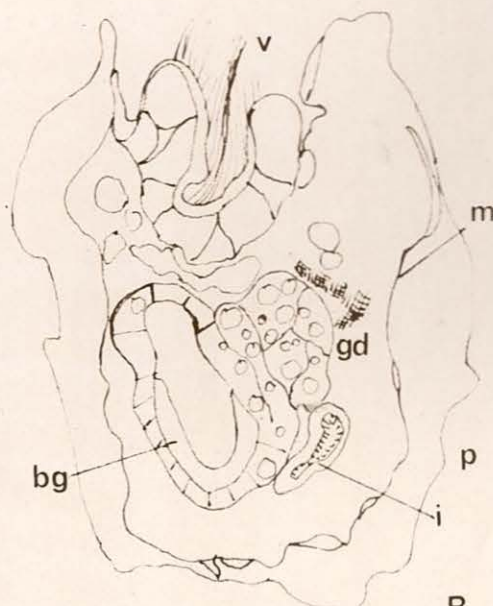
50 μ A



A



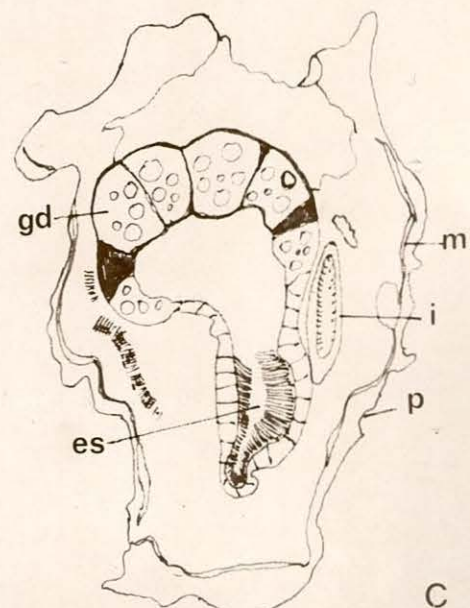
B



B



C



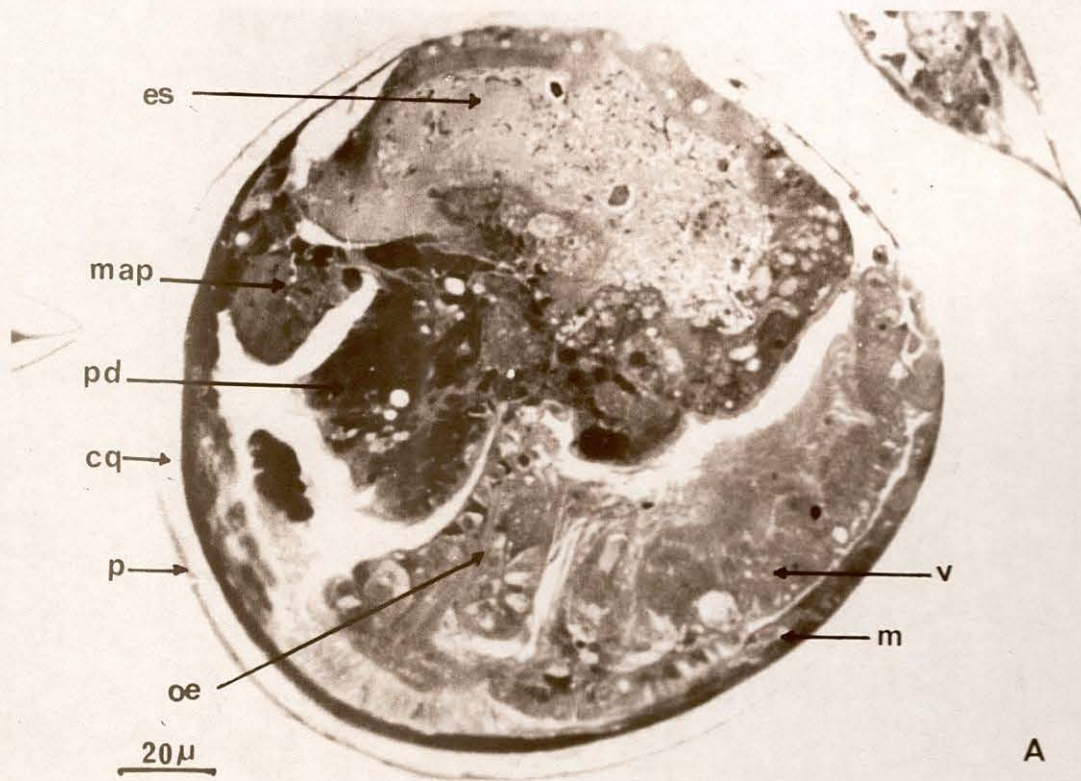
C

- PLANCHE 22 -

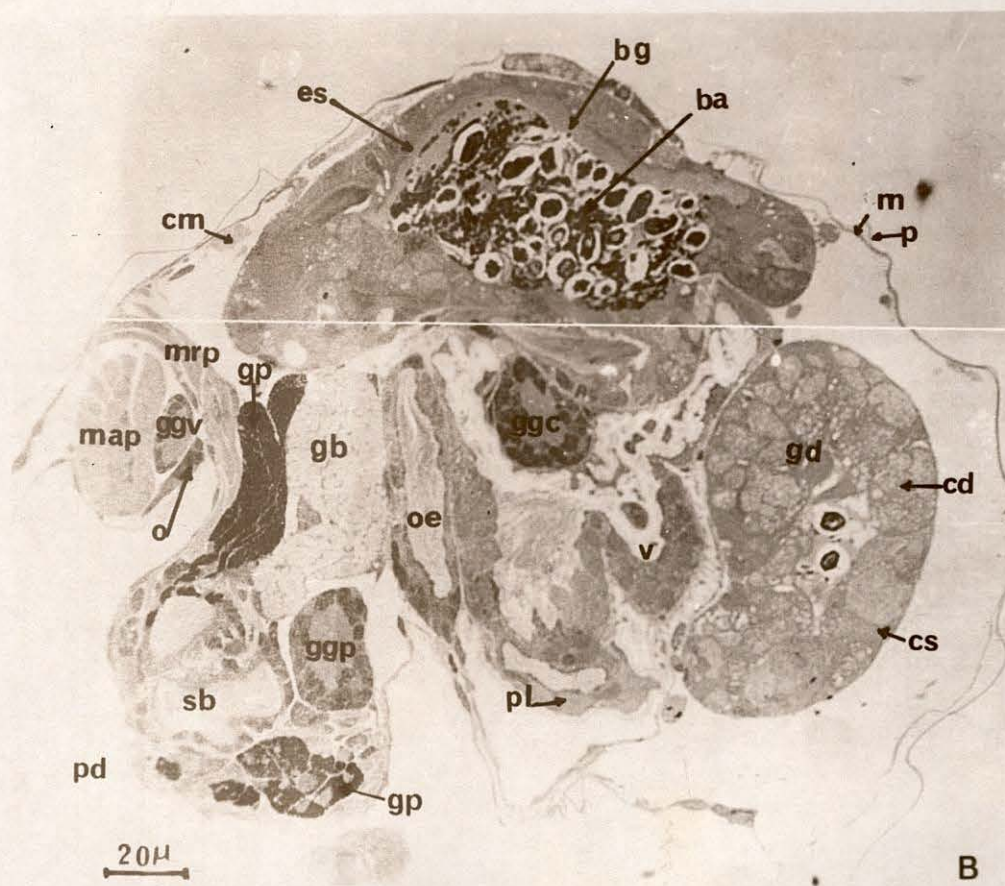
Coupes sagitales de Pédivéligères

(semi-fines - colorées au RICHARDSON)

ba : bol alimentaire
bg : bouclier gastrique
cd : cellule digestive
cm : cellule mésenchymateuse
cs : cellule sécrétrice
cq : coquille
es : estomac
gb : glande blanche
ggc : ganglion cérébroïde
ggp : ganglion pédieux
ggv : ganglion viscéral
gp : glande pourpre
m : manteau
map : muscle adducteur postérieur
mrp : muscle rétracteur du pied
o : osphadium
oe : oesophage
p : périostracum
pd : pied
pl : palpe labial
v : vélum



A



B

- PLANCHE 23 -

Coupes transversales de Pédivéligères
(semi-fines - coloration au RICHARDON)

c : charnière

cd : cellule digestive

cq : coquille

cs : cellule sécrétrice

es : estomac

gd : glande digestive

i : intestin

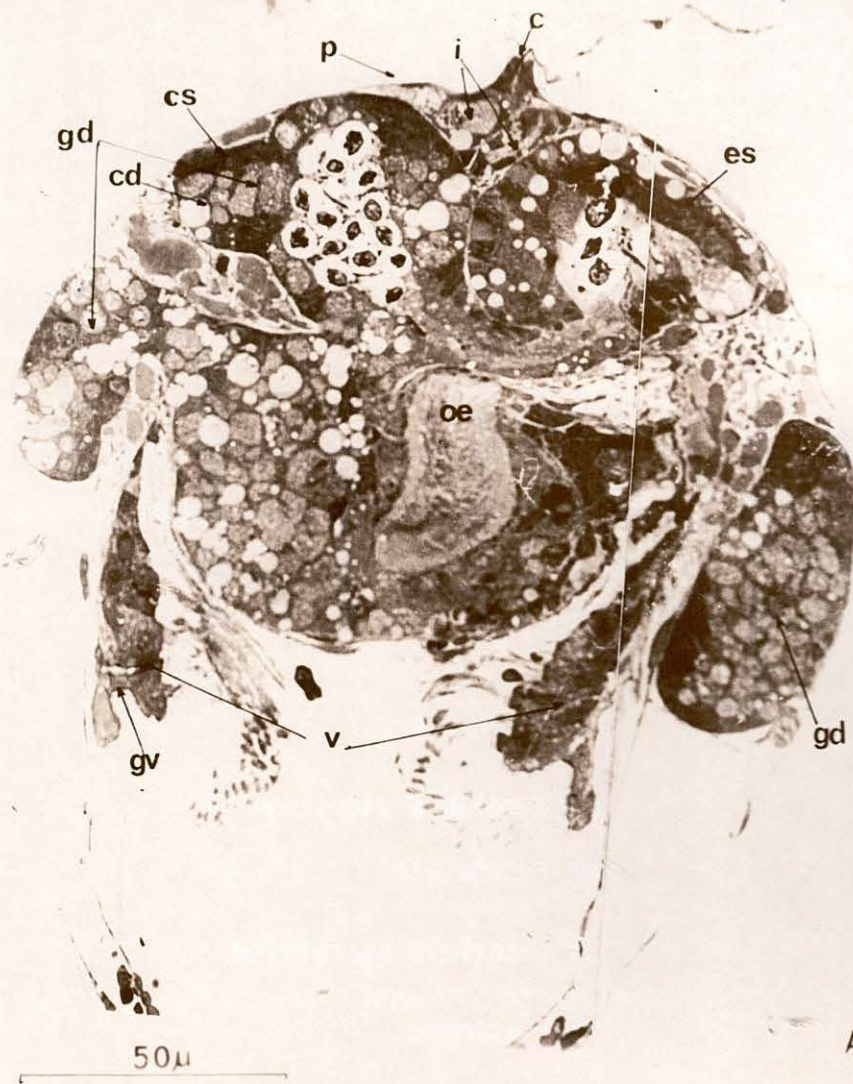
p : périostracum

pd : pied

tc : tige cristalline

tl : typhlosole

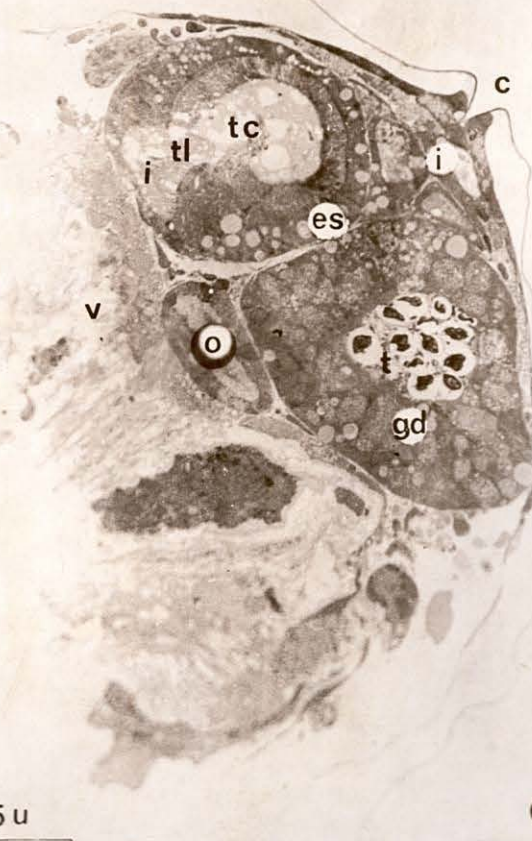
v : velum



A



B



C

- PLANCHE 24 -

A : Electronographie du bord du velum (X 4.000)

c : cils

m : mitochondries

mv : microvillosités

n : noyau

rc : racine vélaire

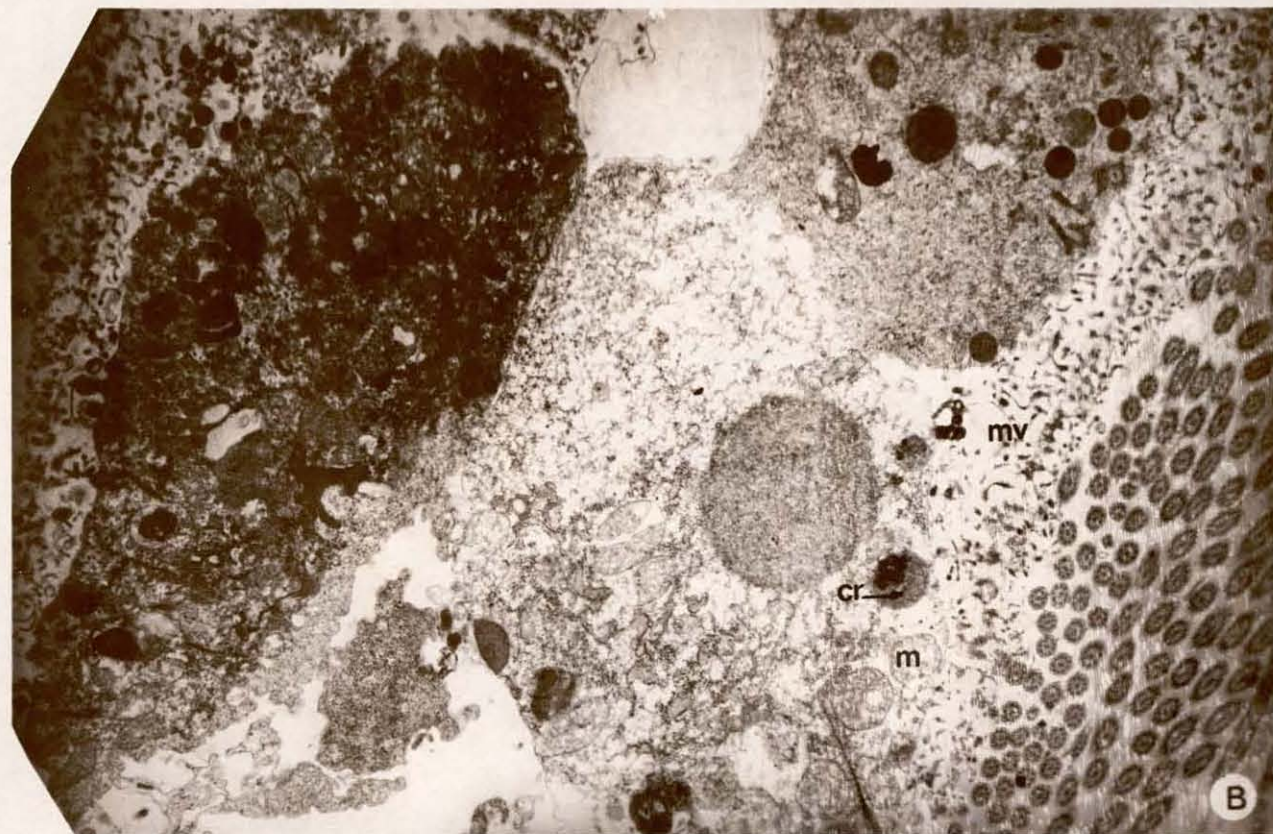
B : Electronographie des cellules du velum
à la métamorphose (X 8.000)

dégénérescence cellulaire

cr : corps résiduels

m : mitochondries

mv : microvillosités dégénérées.



- PLANCHE 25 -

A : Electronographie d'une cellule épithéliale vélaire
montrant des sécrétions muqueuses (X 12.000)

c : cils

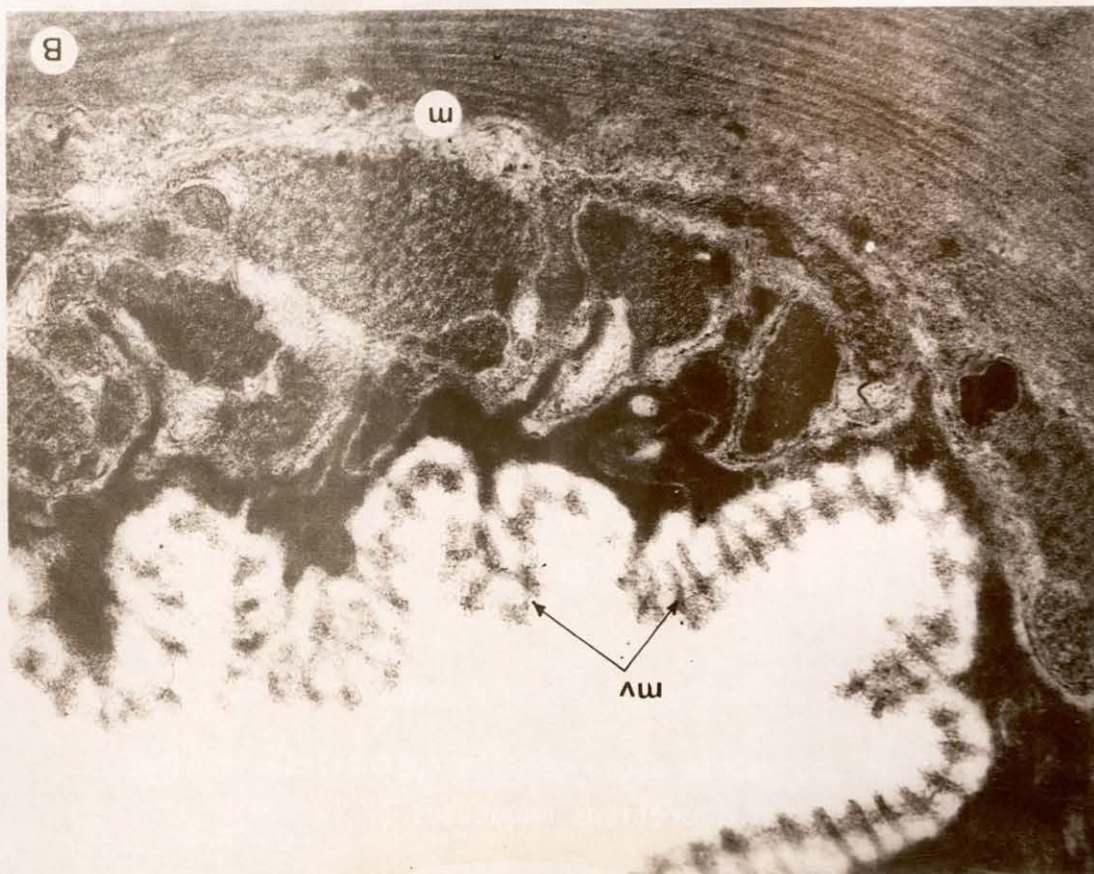
gm : granulations muqueuses

mv : microvillosités

B : Electronographie du plateau vélaire (X 17.000)
on note l'absence de cils

m : insertions musculaires des muscles rétracteurs
du velum

mv : microvillosités



- PLANCHE 26 -

Absorption épithéliale d'éléments dissous

A : Electronographie des cellules épithéliales de la trochophore (X 12.000)

On note la présence de nombreux corps résiduels (cr) et d'appareil de Golgi actif (g)

p : vésicule de pinocytose

mv : microvillosités

m : mitochondries

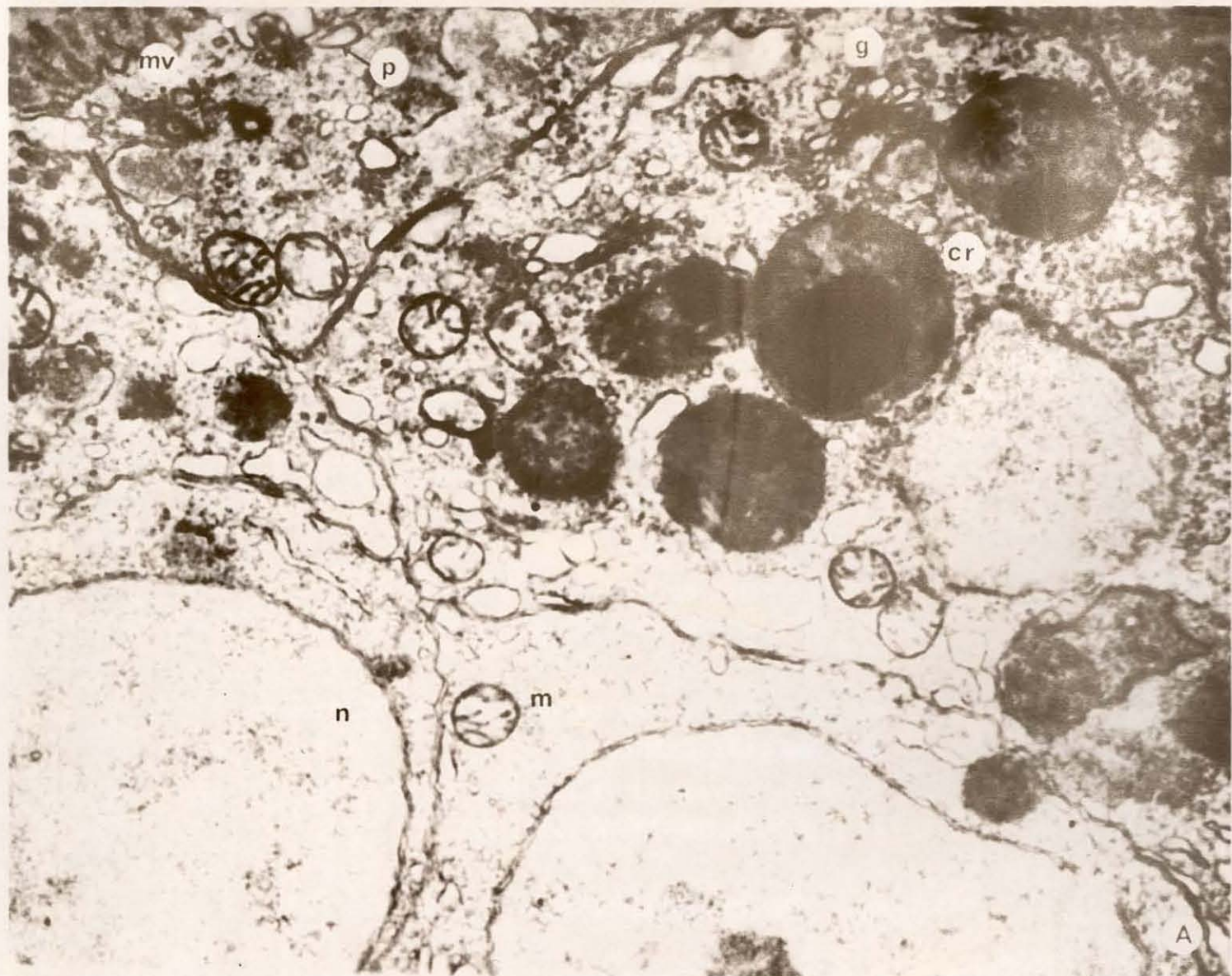
n : noyau

B : Electronographie d'une cellule épithéliale de trochophore absorbant de la ferritine (X 18.000)

La coupe n'est pas colorée. La trochophore a été maintenue pendant 10 mn dans de la ferritine diluée dans l'eau de mer de l'élevage.

f : ferritine

mv : microvillosités



- PLANCHE 27 -

A et B : Electronographies de cellules digestives X 16.000

ag : appareil de Golgi

ci : cellule indifférenciée

erg : réticulum endoplasmique granulaire

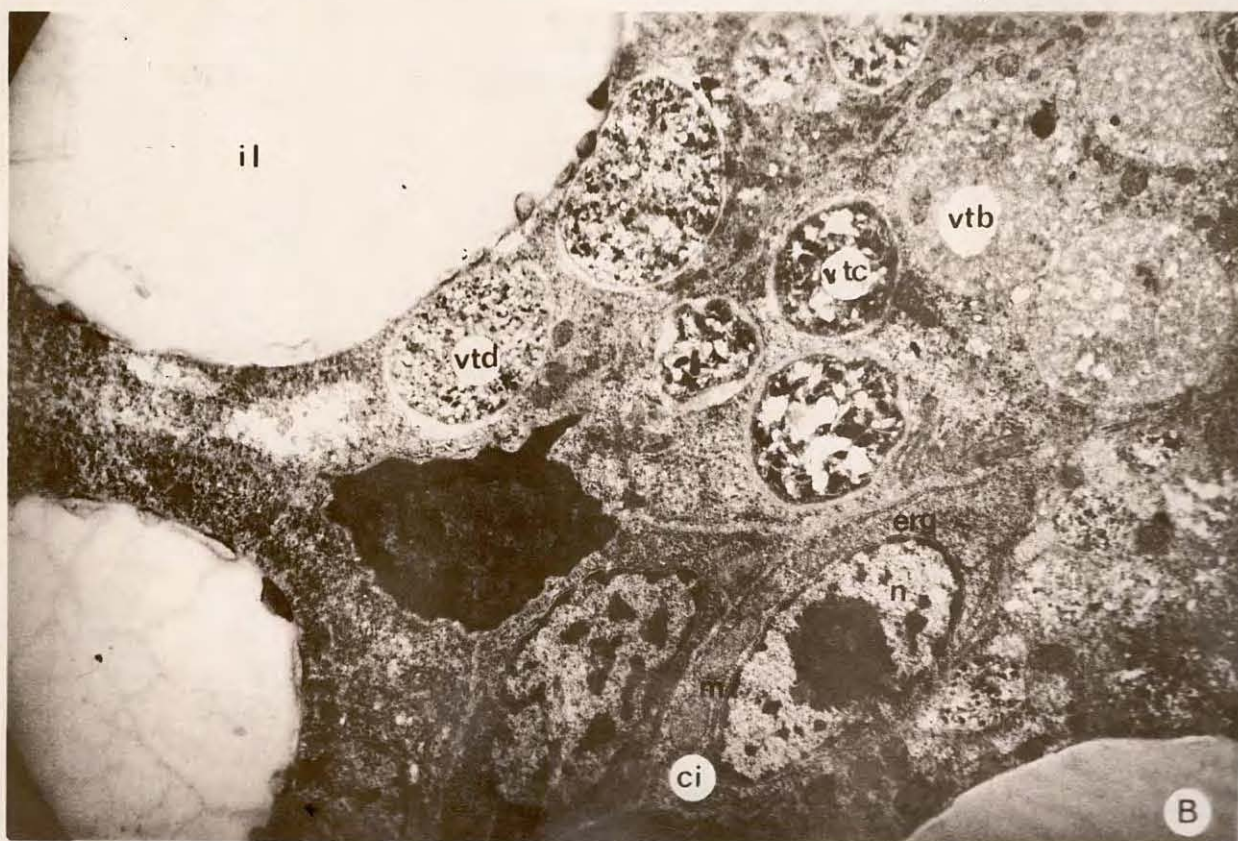
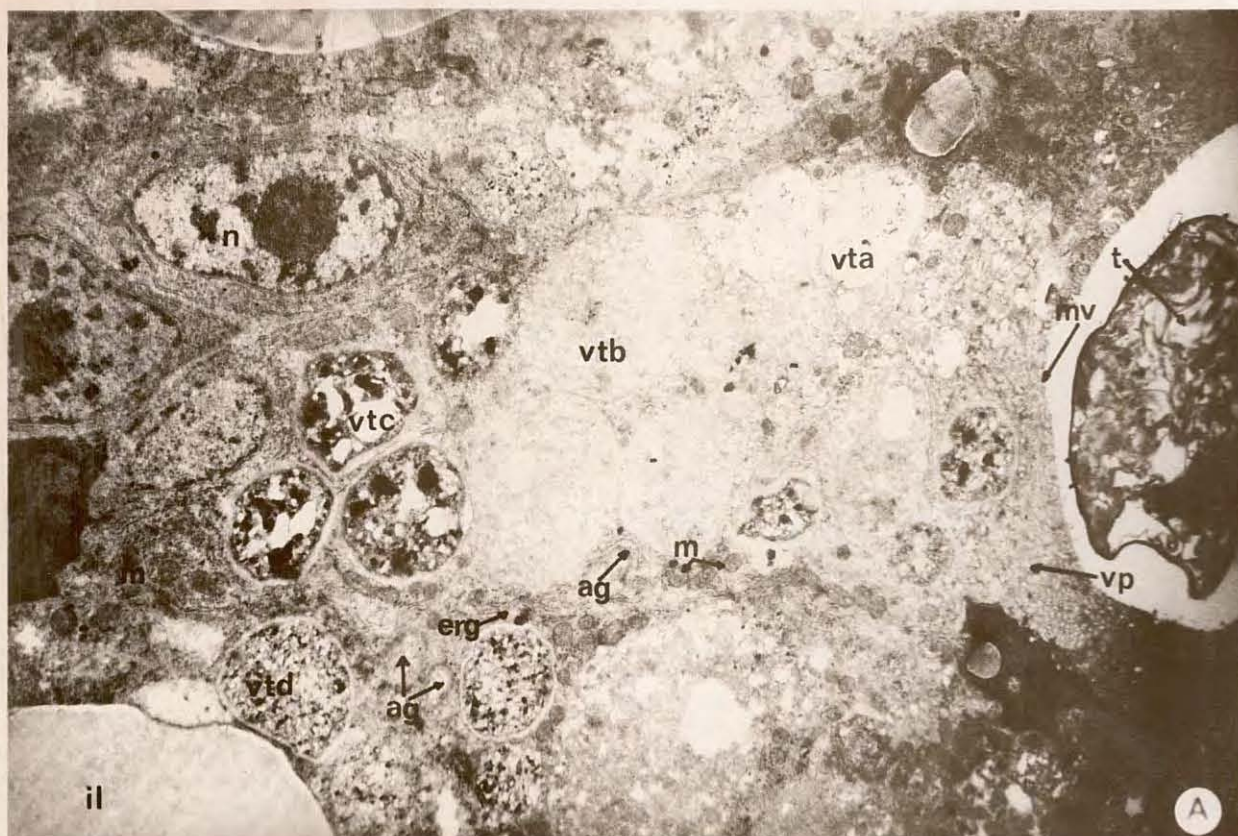
il : inclusion lipidique

m : mitochondries

mv : microvillosités

n : noyau

vta, vtb, vtc, vtd : vacuoles digestives de types a, b, c, d



- PLANCHE 28 -

A : Coupe semi-fine de l'estomac

B : Coupe semi-fine de la larve en état de réplétion stomacale

C : Electronographie du bol alimentaire : les membranes de cellules de *tetraseimis* sont délaminiées et enroulées en pelote de déjection (X 16.000)

D : Coupe semi-fine de la glande digestive : exocytose basale des inclusions lipidiques

bg : bouclier gastrique

c : charnière

ca : cellule de type amœbocytaire

cd : cellule digestive

cs : cellule sécrétrice

eb : exocytose basale

es : estomac

gb : glande blanche

gd : glande digestive

ggp : ganglion pédieux

i : intestin

il : inclusion lipidique

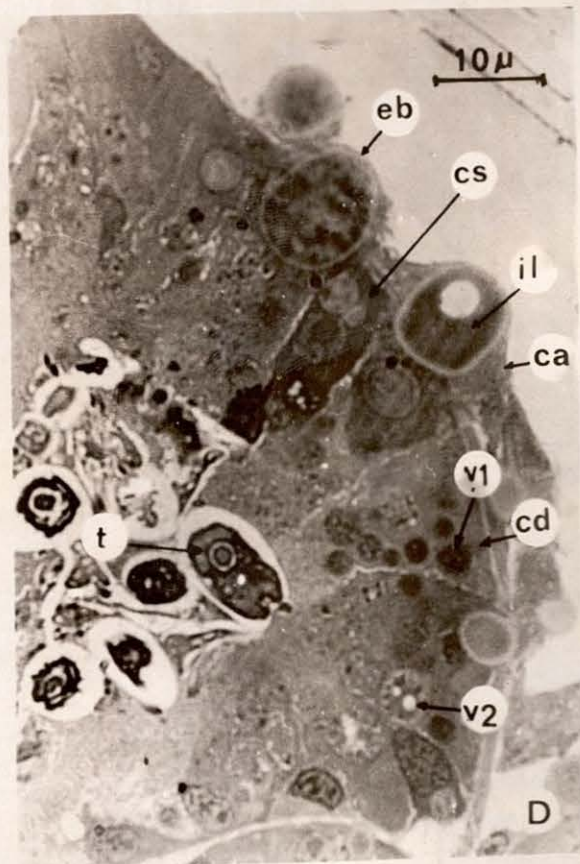
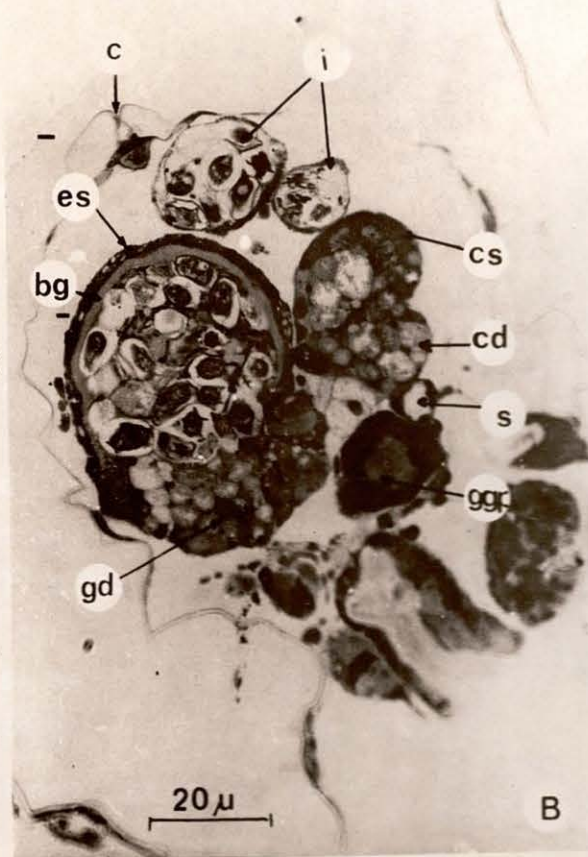
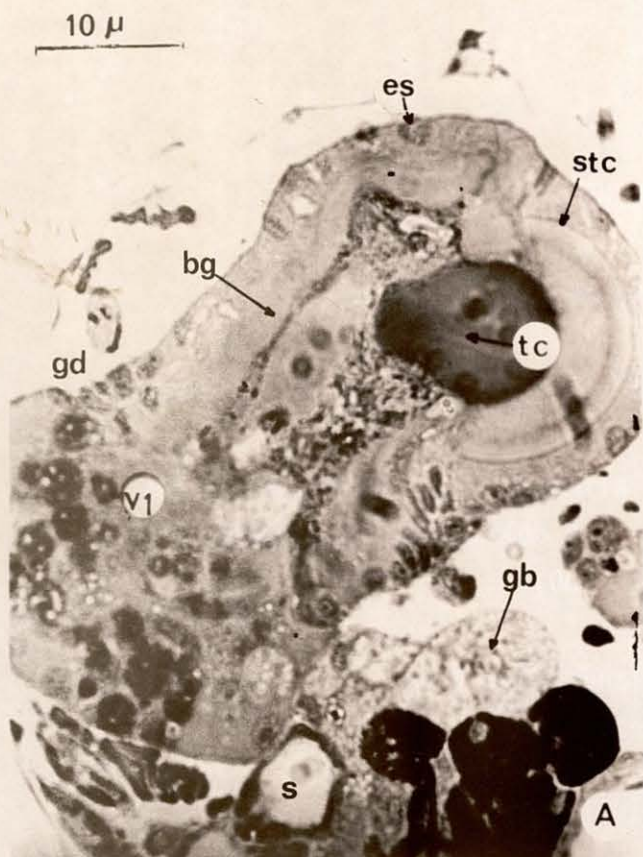
s : statocyte

stc : sac de la tige cristalline

tc : tige cristalline

vi : vacuoles de type c ou d (microvacuoles)

vi : vacuoles de type a ou b (macrovacuoles)



- PLANCHE 29 -

A : Coupe semi-fine de la glande digestive d'une jeune moule de 3 mm de long. Coloration au RICHARDSON.

B : Electronographie d'une tubule de la glande digestive de jeune moule (X 4.000)

C : Détail électronographique des vacuoles digestives (X 12.000)

D : Electronographie de la glande digestive de jeune moule montrant en deux types de cellules sécrétrices : "basiphil cell" et "flagellate cell" (X 4.000)

bc : basiphil cell

cd : cellule digestive

cs : cellule sécrétrice

fc : flagellate cell

il : inclusion lipidique

mu : microvillosités

vta, vrb, vtc, vtd : vacuoles digestives

- PLANCHE 30 -

A : Coupe semi-fine transversale de la trochophore

a : archentéron

cq : coquille

v : vélum

B : Coupe sagittale de l'estomac de la véligère

bg : bouclier gastrique

cp : chambre postérieure

es : estomac

gd : glande digestive

ggc : ganglion cérébroïde

i : intestin

oe : oesophage

p : périostracum

tc : tige cristalline vacuolée

C : Electronographie d'une cellule mésenchymateuse (X 6.500)

ce : cellule de l'épithélium du manteau

il : inclusion lipidique

n : noyau

D : Coupe semi-fine du pied de la véligère

gb : glande blanche, ge : glande des enzymes

gp : glande pourpre, ggp : ganglion pédieux

mrp : muscle rétracteur du pied

po : palpe oral

sb : sac byssogène

E : Electronographie du bord du manteau illustrant la mise en place du périostracum (P). (X 4.000)

