

# Développement Ovocytaire chez L'ombrine, *Sciaenops Ocellatus*, en Conditions Tropicales Martiniquaises

DAVID PARFOURU<sup>1</sup> et CHRISTIAN FAUVEL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IFREMER

Pointe Fort, 97231

Le Robert, Martinique, F.W.I.

<sup>2</sup>IFREMER

Chemin de Maguelone,

4250 Palavas-les-Flots, France

## RÉSUMÉ

L'ombrine (*Sciaenops ocellatus*) est un poisson endémique des eaux subtropicales nord américaines. Elle a été introduite en Martinique (Antilles Françaises) en 1985 à des fins d'aquaculture. L'objectif de cette étude était de décrire le développement ovocytaire de l'ombrine en conditions tropicales martiniquaises. Des biopsies ovariennes mensuelles ont été menées au cours de la période de vitellogenèse, entre juillet et novembre 1997, sur des femelles âgées de deux ans. L'examen de l'ovocyte le plus avancé, entier, a permis de caractériser l'évolution des stades et des diamètres ovocytaires. Les ovocytes en croissance primaire sont présents tout au long de la période de vitellogenèse. Les ovocytes au stade alvéoles corticaux et globules vitellins ont été fréquents respectivement à partir d'août et de septembre. La coalescence des globules vitellins et la migration du noyau se sont manifestés pour la première fois en octobre. La saison des pontes a commencé le 13 octobre. Tous ces événements du développement gonadique se sont produits respectivement 1 et 2,5 mois plus tard qu'en Floride et Caroline du Nord.

MOTS CLEFS: *Sciaenops ocellatus*, développement ovocytaire, Martinique.

## Oocyte Development of Red Drum, *Sciaenops Ocellatus*, under Martinican Tropical Conditions

### ABSTRACT

The red drum (*Sciaenops ocellatus*) is a north american subtropical waters endemic fish. It was introduced in Martinique (French West Indies) in 1985 for aquaculture purposes. The aim of this study was to describe the oocyte development of red drum under martinican tropical conditions. Monthly ovarian biopsies were carried out during the vitellogenesis period, between july and november 1997, on two years old females. The whole most advanced oocyte examination allowed to characterise the oocyte stages and diameters evolution. The primary growth oocytes were present throughout the vitellogenesis period. Corticular alveolar and yolk globules oocytes were common respectively by august and september. Yolk globule coalescence and nucleus migration were first

exhibited by October. The spawning season began on October 13th. All these events of gonadal development occurred respectively 1 and 2.5 months later than in Florida and in North Carolina.

KEY WORDS: *Sciaenops ocellatus*, oocyte development, Martinique

### INTRODUCTION

L'ombrine (*Sciaenops ocellatus*) est un poisson marin présent sur les côtes atlantiques des USA, du sud Massachusetts jusqu'au nord du Mexique (Lux et Mahoney, 1969). C'est une espèce importante pour la pêche tant récréative que commerciale du Texas à la Caroline du nord. Devant le déclin des populations adultes et de manière à mieux gérer les pêcheries, de nombreuses études ont été entreprises sur sa biologie dans les eaux du Texas (Pearson, 1928 ; Simmons et Breuer, 1962 ; Matlock, 1992), de la Louisiane (Boothby et Avault, 1971), du Mississippi (Overstreet, 1983), de l'Alabama (Beckman *et al.*, 1988), de la Floride (Peters et McMichael, 1987), et de la Caroline du nord (Ross *et al.*, 1995).

Parallèlement l'aquaculture s'est développée pour soutenir les programmes de repeuplement (Henderson-Arzapalo, 1992), mais aussi dans un but strictement commercial (Thacker et Griffin, 1994). Après les premiers essais (Lunz, 1956 ; Bearden, 1967), l'élevage de l'ombrine n'a pu se développer qu'une fois l'obtention des pontes en captivité maîtrisée (Arnold *et al.*, 1979 ; Roberts *et al.*, 1978) et les techniques d'élevage larvaire mises au point (Holt *et al.*, 1981a et 1981b ; Holt et Arnold, 1983).

Espérant pouvoir bénéficier de ces importantes connaissances sur l'élevage de l'ombrine, l'association pour le développement de l'aquaculture en Martinique (ADAM) a sélectionné l'espèce comme candidat potentiel au développement de l'aquaculture aux Antilles françaises et l'a introduite en 1985. Après quelques essais d'élevage larvaire intensif à partir d'oeufs importés des USA (Soletchnik *et al.*, 1988), l'IFREMER a retenu cette espèce (Thouard *et al.*, 1990) pour la mise au point de son élevage intensif en cages flottantes.

Les techniques de maturation utilisées aux USA basées sur un contrôle de la température et de la photopériode (Arnold, 1988 et Roberts, 1990) en système clos (Plaia, 1987 et Lawson *et al.*, 1989), ont été directement transférées en milieu tropical dès 1989. Depuis, chaque année, de nombreuses pontes sont ainsi obtenues. Cependant, il apparaît qu'en Martinique, l'ombrine peut maturer et pondre spontanément en conditions naturelles (Soletchnik *et al.*, 1991). Cela ouvre la voie d'une production d'oeufs plus simple et moins coûteuse. Mais, pour optimiser la gestion d'un stock de reproducteurs, il est impératif de bien connaître la biologie de la reproduction de l'espèce dans ce milieu différent de celui de son aire de répartition naturelle.

La biologie de la reproduction de l'ombrine a été décrite par Overstreet (1983), Holt *et al.* (1985), Fitzhugh *et al.* (1988), Murphy et Taylor (1990), Comyns *et al.* (1991), Johnson et Funicelli (1991), Wilson et Nieland (1994) et Ross *et al.* (1995). En aquaculture l'essentiel des travaux sur la reproduction de l'ombrine ont concerné les techniques d'obtention des pontes. Seuls les travaux de Roberts et Truby (1978), et de Roberts *et al.* (1988) et, dans une moindre part ceux de Roberts (1990) et de Roberts *et al.* (1978), ont abordé la physiologie de la reproduction proprement dite.

La première étape choisie, dans l'étude de la reproduction de l'ombrine en conditions Martiniquaises, consiste à décrire la maturation ovarienne par le suivi du développement ovocytaire.

L'ovogenèse des poissons téléostéens a été étudiée par Yamamoto (1956), Foucher et Beamish (1977), Wallace et Selman (1981), De Vlaming (1983), Nagahama (1983), Selman et Wallace (1986 et 1989), Wallace *et al.* (1987) et Bromage et Camaranatunga (1988). Elle se déroule en plusieurs étapes. La première dont les images sont visibles durant toute la vie de l'animal, est le passage de l'ovogonie à l'ovocyte primaire qui reste bloqué en prophase de première division de méiose. L'évolution de l'ovocyte primaire se traduit principalement par une augmentation de sa taille, par une acquisition de matériel de transcription, et du nombre de nucléoles de son noyau. Au cours de l'étape suivante, apparaissent des alvéoles corticaux dans lesquels est accumulée une glycoprotéine endosynthétisée. Ensuite, intervient la phase de vitellogenèse au cours de laquelle l'ovocyte incorpore puis stocke sous forme de globules vitellins une lipoglycoprotéine, précurseur du vitellus. Cette protéine, la vitellogénine, est synthétisée au niveau du foie, transportée par voie sanguine puis reconnue et internalisée spécifiquement. Le volume ovocytaire augmente par l'accroissement de la taille et du nombre de globules vitellins. Lorsque l'ovocyte atteint une taille seuil, les globules vitellins fusionnent, et le noyau migre en périphérie. La dernière étape est la maturation. Elle correspond à une reprise de la méiose et à la disparition des enveloppes nucléaires (GVBD). Chez les poissons marins, cette phase est accompagnée par une rapide augmentation de la taille de l'ovocyte liée à une importante hydratation conduisant à l'ovulation. Cependant, le développement d'un ovocyte peut être arrêté avant la maturation finale. Si c'est le cas, ses structures internes se dégradent, c'est l'atrésie.

Dans cette étude, nous avons cherché à décrire le développement ovarien de l'ombrine en conditions tropicales martiniquaises. Par des biopsies d'ovocytes sur des femelles marquées, soumises à la température et la photopériode naturelles, nous avons étudié la croissance des ovocytes secondaires de la fin de la période de repos sexuel jusqu'au début de la saison de ponte.

## MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les expérimentations ont été réalisées sur 14 femelles d'ombrine entre juillet et novembre 1997 au centre IFREMER du Robert (Martinique, Antilles françaises).

Ces individus âgés de 24 mois en juillet 97 sont issus d'élevages larvaires réalisés à partir d'oeufs pondus par des géniteurs introduits des USA en 1985. Tous les individus sont marqués individuellement par une puce électronique codant pour 8 caractères (chiffres et lettres). Les femelles sont réparties aléatoirement en 2 lots de 7 individus élevés dans deux bassins circulaires de 15 m<sup>3</sup> au contact de mâles issus de la même cohorte (sex-ratio : 1/2) répartis au hasard eux aussi. Les poids moyens initiaux des femelles sont respectivement 3,749 g ± 380 (écart type) et 3,461 g ± 667 pour les bacs 1 et 2, ceux des mâles sont 3,486 g ± 250 et 3,989 g ± 513.

Les bassins sont disposés à l'extérieur et alimentés directement en eau de mer du site à un débit de 10 m<sup>3</sup>/h. La température de l'eau est relevée tous les jours à 8h et à 16h. Les poissons sont donc soumis aux conditions naturelles de température de l'eau et de photopériode. Chaque bassin est équipé d'un collecteur d'oeufs. Les ombrines sont nourries tous les jours à 1% de leur poids vif avec un aliment extrudé du commerce de 18 mm de diamètre contenant 54% de protéines brutes, 15% de matières grasses brutes, 8% de cendres brutes et 1% de cellulose brute. La distribution de l'aliment est automatique et continue de 7h 30 à 17h30.

Chaque premier jour du mois, les poissons sont anesthésiés au Phénoxy-2 éthanol (0,3%) (Derozier, 1989) et pesés à 1g près. Lorsque cela est possible, un échantillon d'ovocyte est prélevé à l'aide d'une pipelle de Cornier. Il s'agit d'un tube souple à piston de diamètre intérieur de 2,6 mm à l'extrémité arrondie utilisé en médecine humaine pour les biopsies d'endomètre (Mugnier, 1996). Son niveau de pénétration dans l'ovaire peut être contrôlé grâce aux graduations qu'il porte. La biopsie est réalisée dans la zone médiane de l'ovaire. Les ovocytes prélevés sont séparés en deux sous-échantillons de 0,3 à 0,5g et de 0,1 à 0,25g.

Le premier sous échantillon est pesé à 0,001g près puis stocké dans 20ml de liquide de Gilson. Ce liquide a été utilisé pour la première fois en étude de fécondité par Franz (1910) chez *Pleuronectes platessa* L. puis modifié par Simpson (1951). Ce liquide durcit les ovocytes, facilite la désagrégation du tissu ovarien et donc favorise la dissociation des ovocytes. Après 3 mois dans le liquide de Gilson (Pitt, 1964), l'échantillon sera analysé afin de connaître la distribution des fréquences des différentes classes des diamètres ovocytaires. Cette partie de traitement des échantillons n'étant pas terminée, elle n'est pas présentée dans cette étude.

Le second sous-échantillon est placé dans le liquide EFA (Ethanol, Formol et Acide acétique) fixateur et éclaircisseur utilisé par Brown-Peterson *et al.* (1988) mais modifié par un ajout de 9g/l de NaCl. Il est ensuite agité vigoureusement

pendant 15 secondes. Après quelques dizaines de minutes, les ovocytes se dissocient facilement et leur cytoplasme décoloré permet une observation directe des ovocytes entiers à la loupe binoculaire ou au microscope optique. Le diamètre de l'ovocyte le plus avancé sur 100 ovocytes observés est mesuré à l'aide de la grille micrométrique de l'oculaire. Si sa forme est jugée trop ovoïde, le diamètre retenu est calculé en effectuant la moyenne du plus grand et du plus petit diamètre mesurés. Le stade de maturation de ce même ovocyte est déterminé suivant une classification décrite dans le Tableau 1 adapté d'après Yamamoto (1956), Wallace et Selman (1981), Wallace *et al.* (1987), Mugnier (1996) et Zimmermann (1997). Les six stades ovocytaires choisis sont : croissance primaire (CP), alvéoles corticaux (AC), globules vitellins (GV), noyau en migration (NM), hydratation (H) et atrésie (A). Ensuite le diamètre du plus petit ovocyte observable appartenant au même stade que l'ovocyte le plus avancé est mesuré. Cela permet de connaître le domaine de variation des diamètres ovocytaires au sein de chaque stade.

## RÉSULTATS

L'évolution des moyennes hebdomadaires de température et de photopériode sont présentés sur la Figure 1.

La méthode de biopsie retenue n'a pas permis d'obtenir un échantillon d'ovocytes chaque mois pour chacune des 14 femelles. Les résultats des tentatives de prélèvement sont présentés dans le Tableau 2. Seules les femelles 3, 5, 8 et 10 ont pu être biopsiées à chaque fois. Les individus 4, 7 et 13 ont été biopsiés 4 fois sur 5. Pour les autres, les prélèvements n'ont été possibles que 2 ou 3 fois sur 5. Au niveau mensuel, le taux de réussite des biopsies est très variable : de 100% en juillet, il chute à 71 puis 43% en août et septembre pour ensuite atteindre 64% en octobre et enfin 91% en novembre. Le taux de réussite global pour toutes les femelles et tous les mois est de 74%.

Dans la suite de l'étude, seuls sont exposés les résultats concernant les femelles pour lesquelles le taux de réussite des biopsies atteint ou dépasse les 80%.

Entre juillet et novembre, les échantillons prélevés ont permis d'observer les stades croissance primaire (CP), alvéoles corticaux (AC), globules vitellins (GV), noyau en migration (NM), hydratation (H) et atrésie (A). Les caractéristiques de ces stades observables sur un ovocyte entier en microscopie optique sont présentés dans le Tableau 3.

L'évolution du diamètre de l'ovocyte le plus avancé observé chez les femelles 3, 4, 5, 7, 8, 10 et 13 entre juillet et novembre est présentée sur la Figure 2. Les données chiffrées correspondantes ainsi que les stades ovocytaires sont réunis dans le Tableau 4.

**Tableau 1.** Caractéristiques microscopiques des stades de développement des ovocytes de l'ombrine (adapté d'après Yamamoto, 1956 ; Wallace et Selman, 1981 ; Wallace *et al.*, 1987 ; Mugnier, 1996 et Zimmermann, 1997)

Stade	Description de l'ovocyte
1. Croissance Primaire (CP)	Ovogonies et ovocytes en pré-vitellogenèse caractérisés par l'absence de vacuoles ou d'inclusions dans le cytoplasme.
2. Alvéoles Corticales (AC)	Apparition de vacuoles, puis d'alvéoles corticales dans le cytoplasme. Présence possible de globules lipidiques.
3. Globules Vitellins (GV)	Apparition de globules vitellins. Les alvéoles corticales sont repoussés en périphérie sur une fine lame.
4. Noyau en Migration (NM)	Fusion des globules vitellins, cytoplasme au moins en partie hyalin, migration du noyau en périphérie.
5. Hydratation (H)	Disparition des enveloppes nucléaires, augmentation importante de taille liée à l'hydratation, taille maximum de l'ovocyte.
6. Atrésie (A)	Dégénérescence des structures internes de l'ovocyte.

**Tableau 2.** Résultats des tentatives de biopsie d'ovocytes sur 14 femelles d'ombrine, de juillet à novembre 1997. 0 = échec, 1 = réussite, M = mort de l'individu.

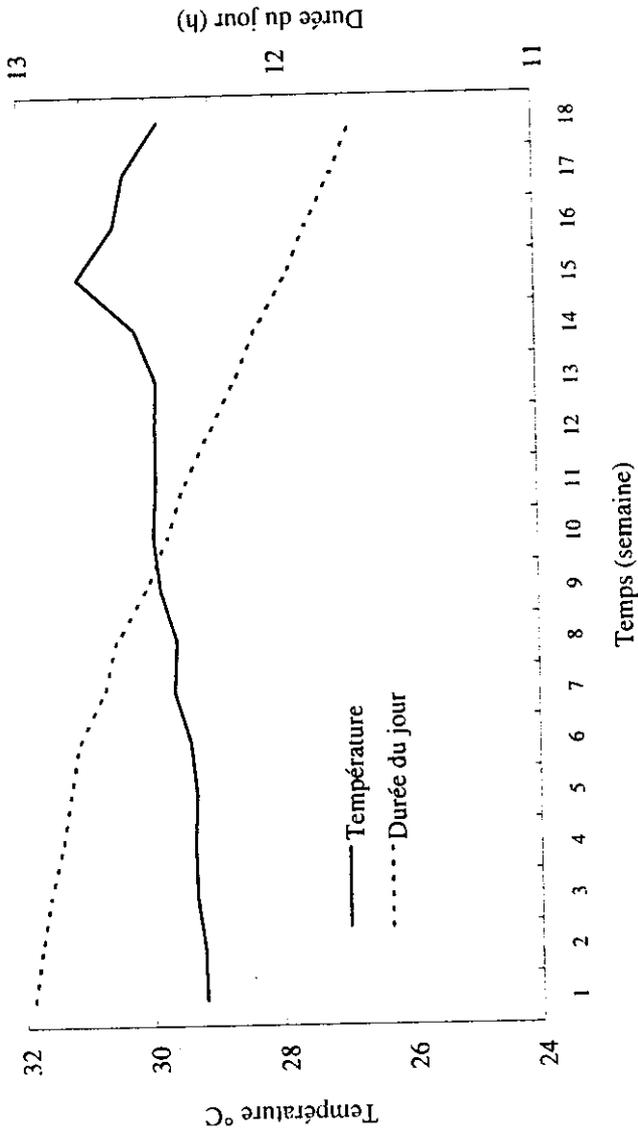
Individu	Mois							% de réussite
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	% de réussite		
1	1	0	0	0	1	40	40	
2	1	0	0	0	1	40	40	
3	1	1	1	1	1	100	100	
4	1	1	1	1	0	80	80	
5	1	1	1	1	1	100	100	
6	1	1	0	0	1	60	60	
7	1	1	1	0	1	80	80	
8	1	1	1	1	1	100	100	
9	1	1	0	1	M	60	60	
10	1	1	1	1	1	100	100	
11	1	1	0	1	M	60	60	
12	1	0	0	1	M	40	40	
13	1	1	0	1	1	80	80	
14	1	0	0	0	1	40	40	
% de réussite	100	71	43	64	91	74		

**Tableau 3.** Caractéristiques microscopiques des stades de développement des ovocytes d'ombrine avant et après décoloration au liquide EFA. Domaine de variation du diamètre ovocytaire entre parenthèses.

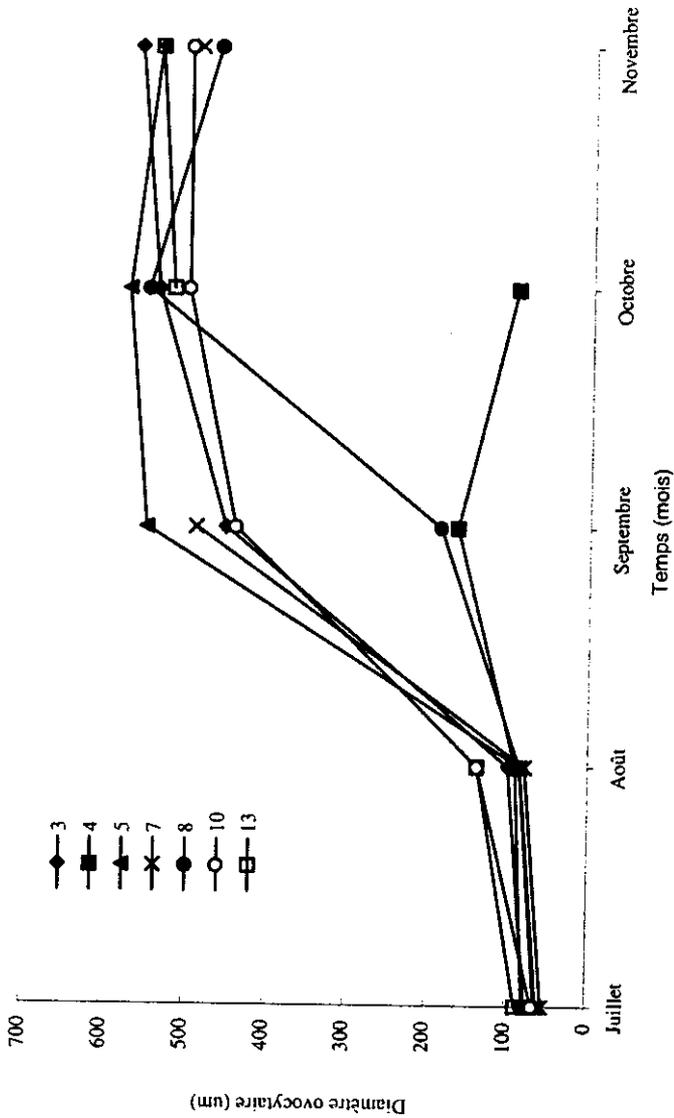
Apparence de l'ovocyte entier en microscopie optique		Stade proposé
Avant décoloration	Après décoloration	
Ovocyte transparent, gros noyau central et fine lame de cytoplasme. Absence de vacuoles ou d'inclusions dans le cytoplasme (< 120 µm).	Identique à celle d'avant décoloration	1. Croissance Primaire (CP)
Ovocyte sombre, granuleux mais encore translucide, noyau encore visible, rapport nucléoplasmique peu élevé (100 - 260 µm).	Ovocyte translucide. Alvéoles corticales visibles en cercles concentriques autour du noyau.	2. Alvéoles Corticales (AC)
Ovocyte sombre, complètement opaque, noyau non visible (280 - 575 µm).	Ovocyte translucide. Globules vitellins visibles (5 - 15 µm). Alvéoles corticales repoussées en périphérie sur une fine lame.	3. Globules Vitellins (GV)
Ovocyte en partie translucide. Migration du noyau en périphérie. (465-587 µm).	Ovocyte translucide. Noyau en migration nettement visible. Globules vitellins de gros diamètre (jusqu'à 50 µm). ou en coalescence.	4. Noyau en Migration (NM)
Ovocyte translucide. Globule lipidique visible. Disparition des enveloppes nucléaires. (0.9-1.1mm)	Identique à celle d'avant décoloration	5. Hydratation (H)
Dégénérescence des structures de l'ovocyte. Apparence variable selon le niveau de développement.	Ovocyte translucide. Structures en cours de dégénérescence bien visibles.	6. Atrésie (A)

**Tableau 4.** Evolution des stades et des diamètres ( $\mu\text{m}$ ) des ovocytes les plus avancés observés le premier jour du mois chez 7 femelles d'ombrine de juillet à novembre 1997. CP = Croissance Primaire, AC = Alvéoles Corticales, GV = Globules Vitellins, NM = Noyau en Migration, H = Hydratation, A = Atrésie, NC = non connu.

Individu	Mois											
	Juillet		Août		Septembre		Octobre		Novembre			
	Stade	Taille	Stade	Taille	Stade	Taille	Stade	Taille	Stade	Taille		
3	CP	75	AC	99	GV	453	GV	538	NM	563		
4	CP	78	CP	90	AC	165	AC	93	NC	NC		
5	CP	60	CP	84	GV	550	GV	575	NM	538		
7	CP	54	CP	78	GV	489	NC	NC	A	489		
8	CP	63	AC	85	AC	186	GV	550	NM	465		
10	CP	66	AC	138	GV	440	GV	489	NM	501		
13	CP	87	AC	138	NC	NC	MN	520	NM	538		



**Figure 1.** Evolution de la température (°C) de l'eau et de la durée du jour (h) en Martinique entre le 01/07/1997 et le 03/11/97. Le temps est compté en semaines et la semaine 1 est la première semaine du mois de juillet.



**Figure 2.** Evolution des diamètres (µm) de l'ovocyte le plus avancé observé chez 7 femelles d'ombrine (individus 3, 4, 5, 7, 10 et 13), de juillet à novembre 1997.

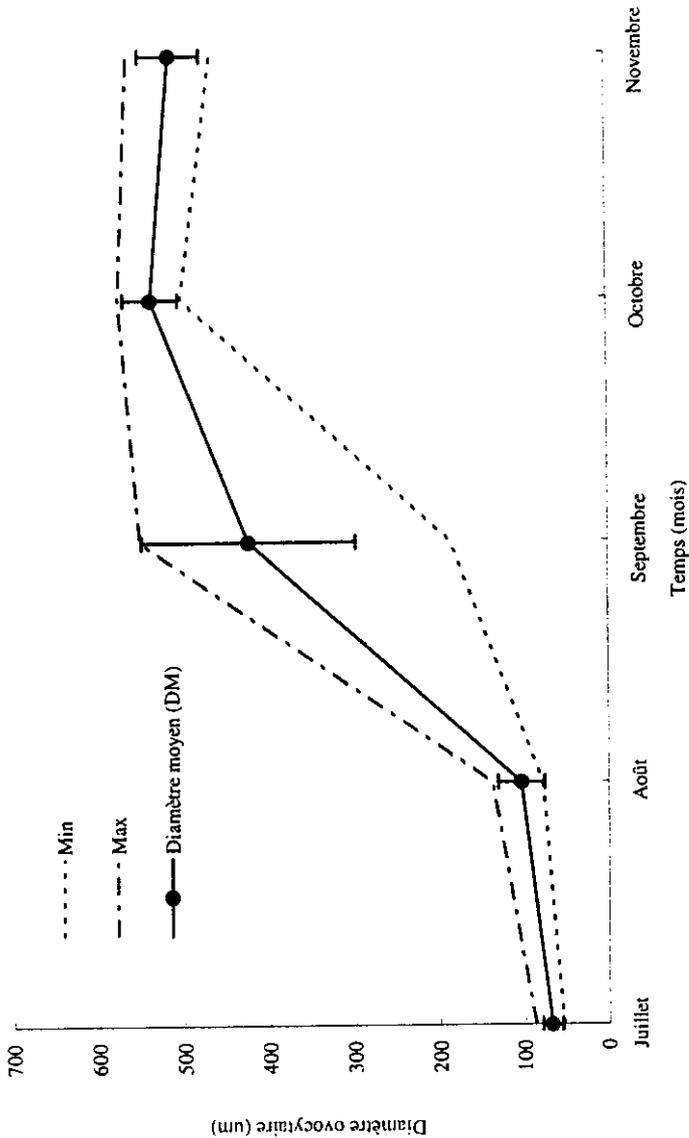
En juillet, pour toutes les femelles, les ovocytes les plus avancés sont en croissance primaire et leurs diamètres sont inférieurs à 90  $\mu\text{m}$ . En août, deux individus (10 et 13) se distinguent des autres. Leur diamètre ovocytaire atteint 140  $\mu\text{m}$ , ils sont au stade alvéoles corticales. Pour les autres, les diamètres restent inférieurs à 100  $\mu\text{m}$ . Trois individus sont restés au stade croissance primaire tandis que quatre ont atteint le stade alvéoles corticales. Entre août et septembre on assiste à une très importante évolution. Quatre sont entrés en vitellogenèse, leurs diamètres ovocytaires dépassent 400  $\mu\text{m}$ . Deux femelles restent au stade alvéoles corticales, le diamètre de leurs ovocytes les plus avancés reste voisin de 170  $\mu\text{m}$ . Entre les mois de septembre et d'octobre, la croissance ovocytaire des individus en vitellogenèse se poursuit. Elle est cependant beaucoup moins rapide que lors de la période précédente. Au 1<sup>er</sup> octobre ces individus sont encore au stade globules vitellins. La moyenne des 4 diamètres correspondants passe de 483 à 534  $\mu\text{m}$ . Sur cette même période, un des individus stagnant entre en vitellogenèse et une forte croissance ovocytaire se produit. Elle amène le diamètre ovocytaire à niveau équivalent à ceux cités précédemment (550  $\mu\text{m}$ ). Pour finir, sur la dernière période, la taille des ovocytes les plus avancés continue d'augmenter chez les femelles 3, 10 et 13, et diminue pour les femelles 5 et 8. Tous ces individus sont au stade migration du noyau. Une femelle présente des ovocytes atrétiques. Précisons que, pour les individus qui avaient en octobre atteint ou dépassé un diamètre ovocytaire de 535  $\mu\text{m}$ , ainsi que pour l'individu au stade atrétique, l'échantillon prélevé en novembre contenait un très faible nombre d'ovocytes de taille supérieure à 200  $\mu\text{m}$ . Pour les autres femelles, les gros ovocytes étaient très nombreux.

Notons par ailleurs que le prélèvement de novembre de l'individu 14 contenait des ovocytes hydratés.

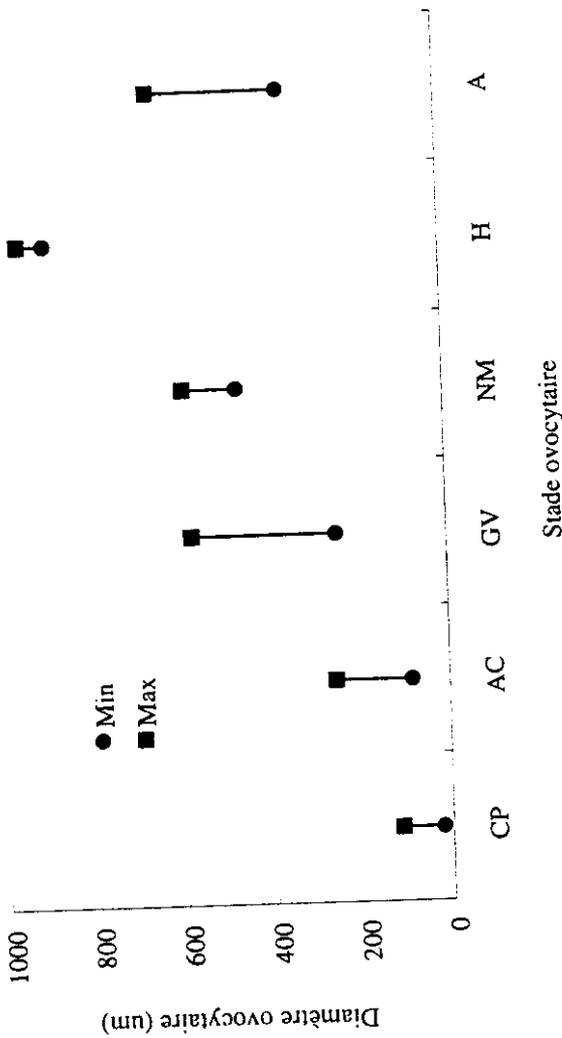
La moyenne des diamètres des ovocytes les plus avancés a été calculée chez les femelles pour lesquelles le taux de réussite de biopsie a dépassé les 80% excepté l'individu n°4 pour lequel la croissance ovocytaire s'est arrêtée au stade alvéoles corticales et qui a été écarté. La Figure 3 représente l'évolution de cette moyenne ainsi que l'écart type associé.

La première ponte a eu lieu le 13 octobre 1997. Par la suite, 9 autres pontes se sont produites en octobre. Et au moment de la rédaction de cet article (début novembre 1997), la saison de ponte n'est pas terminée. Les domaines de variation minima et maxima des diamètres des ovocytes sont présenté sur la Figure 4. Les données chiffrées correspondantes sont incluses dans le Tableau 4.

Tous les éléments concernant l'évolution des poids individuels ne sont pas présentés dans cette étude.



**Figure 3.** Evolution du diamètre moyen (DM en  $\mu\text{m}$ ) (moyenne  $\pm$  écart type) et des classes moyennes la plus petite (Min) et la plus grande (Max) des ovocytes les plus avancés observés le premier jour du mois chez 6 femelles d'ombrine (individus 3, 5, 8, 10 et 13) de juillet à novembre 1997.



**Figure 4.** Domaine de variation (Min et Max) des diamètres des ovocytes ( $\mu\text{m}$ ) observés chez 14 femelles d'ombrine entre juillet et novembre 1997 pour chacun des stades ovocytaires observés, Croissance Primaire (CP), Alvéoles Corticaux (AC), Globules Vitellins (GV), Noyau en Migration (NM), Hydratation (H), Atrésie (A).

## DISCUSSION

La méthode de biopsie ovarienne à l'aide d'une pipelle de Cornier est très intéressante. Cette pipelle est plus simple à utiliser qu'un classique cathéter. Son extrémité arrondie limite les risques de blessures au niveau du conduit et des parois de l'ovaire. Les graduations qu'elle porte permettent de contrôler son niveau de pénétration et le volume de l'échantillon prélevé. Le piston dont elle est équipée rend plus aisée l'aspiration du fragment ovarien qu'avec une simple aspiration buccale ou qu'avec l'association seringue cathéter préconisée par Roberts (1990). De plus, le piston restant en permanence au contact du tissu prélevé, il ne se produit pas d'aspiration différentielle en fonction de la variation de la force de succion exercée.

Le taux de réussite globale de 75% sur les cinq mois pour les 14 femelles est très acceptable. Chez les individus pour lesquels les biopsies ont été aisées, les prélèvements *in vivo* au cours de la période de développement gonadique ne semblent pas exercer d'influence néfaste sur la croissance ovocytaire. Il serait par la suite, intéressant de vérifier par l'utilisation d'un lot témoin non biopsié, si une biopsie mensuelle n'entraîne pas une baisse de la fécondité ou de la qualité des pontes. Par ailleurs, il serait profitable d'évaluer la fréquence limite de prélèvement n'entraînant pas de perturbation dans le bon déroulement du développement ovocytaire. Cela permettrait alors d'acquérir une connaissance plus fine du développement ovocytaire de l'ombrine.

L'observation des ovocytes entiers après éclaircissement dans le liquide EFA permet d'identifier le stade ovocytaire. Cette méthode d'observation est plus rapide, moins coûteuse et plus facile qu'une observation histologique après coupe et coloration. L'observation de l'ovocyte entier ne permet pas d'identifier la composition biochimique des inclusions cytoplasmiques comme le rend possible l'utilisation de coupes histologiques associées à des colorations spécifiques. Elle est cependant suffisante dès lors qu'il s'agit de déterminer uniquement le stade ovocytaire sur des critères simples tels que la présence ou l'absence d'alvéoles corticales, de globules vitellins, ou encore la position du noyau...

Le plus souvent, les ovocytes observés possèdent une forme irrégulière plus ovoïde que sphérique. De plus, dans la majorité des cas le noyau est légèrement excentré. Cela concorde avec les observations d'Overstreet (1983).

Les ovocytes en croissance primaire sont toujours présents. Cela confirme les résultats d'Overstreet (1983), de Fitzhugh *et al.* (1988) et de Wilson et Nieland (1994). Au cours de cette période, une accumulation de matériel cytoplasmique dense se produit d'abord autour du noyau, puis dans tout le cytoplasme. Le mode d'observation utilisé ne permet pas de connaître la nature de ces substances déjà observées par Overstreet (1983) qui les avait assimilées à des corpuscules de Balbiani. Cette phase de croissance ovocytaire se déroule en dehors de tout contrôle par les gonadotropines et donc indépendamment de tout

stimulus environnemental (Harvey et Hoar, 1980). Cela explique la présence d'ovocytes primaires tout au long de l'année.

En conditions tropicales martiniquaises, la vitellogenèse au sens large regroupe les stades alvéoles corticaux, globules vitellins et noyau en migration. Elle se déroule pour une température croissante entre 29 et 31°C, et une durée d'éclairement journalière diminuant de 13h00 à 12h00.

Les ovocytes au stade alvéoles corticaux sont visibles à partir du mois d'août (semaine 5), lorsque la température et la photopériode sont proches respectivement de 29.3°C et de 12h50. Ensuite, comme l'avait observé Fitzhugh *et al.* (1988) en milieu subtropical, ils restent présents tout au long du développement ovocyttaire.

Les premiers ovocytes en vitellogenèse apparaissent entre fin août et début septembre (semaine 9) quand la température et la photopériode atteignent respectivement 29.6°C et 12h35. Les premiers ovocytes au stade noyau en migration sont présents dès le début octobre (semaine 14). A ce moment de l'année, l'eau est à 30°C et le jour dure 12h00. La durée de la vitellogenèse est donc comprise entre 1 et 1,5 mois. Fitzhugh *et al.* (1988) n'ont observé un nombre important d'ovocytes au stade globules vitellins qu'à partir du mois d'août et les premiers ovocytes hydratés en septembre. On peut donc en déduire que, dans les deux conditions tropicales et subtropicales, la cinétique de la vitellogenèse est comparable.

La première ponte a eu lieu le 13 octobre, à la fin de la semaine 15, à une température de 30.7°C et une durée d'éclairement de 12h00.

D'un stade ovocyttaire à l'autre, le domaine de variation du diamètre de est très variable. Chez la plupart des poissons téléostéens, à la fin de la phase de croissance primaire, l'ovocyte est passé d'un diamètre de 20 - 30 µm, à un diamètre de 100 - 200 µm (Wallace *et al.*, 1987). Dans cette étude, le plus gros ovocyte observé au stade croissance primaire a été mesuré à 114 µm. Le domaine de variation du diamètre de l'ovocyte est de 94 µm.

Au stade alvéoles corticaux, ce domaine est plus important. La taille des ovocytes varie entre 85 et 258 µm. Cela traduit les fortes transformations qui se produisent dans la cellule au cours de cette période.

Au cours de la vitellogenèse au sens strict, l'augmentation du diamètre de l'ovocyte est encore plus importante: 325 µm d'amplitude. Overstreet (1983) a observé des ovocytes au stade globules vitellins dès une taille de 70 µm. Les plus petits ovocytes observés à ce stade dans cette étude mesurent 250 µm. Les plus gros atteignent 575 µm. Au cours de la vitellogenèse, le diamètre ovocyttaire est au moins multiplié par 2. C'est la phase la plus évolutive du développement ovocyttaire. Cette forte croissance en diamètre est bien mise en évidence sur la Figure 2. Elle traduit bien l'importance de l'accumulation de réserves de vitellogenine réalisée.

Lors de la phase noyau en migration, l'augmentation du diamètre de l'ovocyte est peu importante. C'est une phase au cours de laquelle ne se produit aucune accumulation de réserves. On assiste uniquement à une modification des structures en place. C'est une phase peu évolutive. Le plus gros ovocyte observé à ce stade a un diamètre de 587  $\mu\text{m}$ . Le plus petit mesure 465  $\mu\text{m}$ . Cela concorde avec les résultats d'Overstreet (1983) qui n'avait pas observé d'ovocyte d'une taille supérieure à 580  $\mu\text{m}$ . Le diamètre de 580 - 590  $\mu\text{m}$  semble donc être le stade seuil à partir duquel la maturation terminale peut avoir lieu.

Les ovules observés chez l'individu 14 le 01/11 mesuraient entre 900 et 950  $\mu\text{m}$ . Holt *et al.* (1981a) avaient réalisé des mesures du même ordre avec 930  $\mu\text{m}$  de moyenne (860 - 980  $\mu\text{m}$ ). L'écart de taille très important entre l'ovocyte hydraté et l'ovocyte dont le noyau est en migration traduit bien la forte augmentation du diamètre suite à l'hydratation.

En ce qui concerne les ovocytes atrétiques, leur diamètre dépend essentiellement de la phase de développement au cours de laquelle la croissance de l'ovocyte a été stoppée.

Au cours de cette étude, aucun ovocyte n'a pu être observé lors des dernières phases de maturation. Les ovocytes du stade noyau en migration sont presque tous en début de coalescence. Les dernières étapes de la maturation ont été étudiées par Brown-Peterson *et al.* (1988) chez *Cynoscion nebulosus*, un Sciaenidé dont la biologie est proche de celle de l'ombrine. Chez cette espèce, les dernières transformations de l'ovocyte sont très rapides. La coalescence commence à l'aube, la migration du noyau débute en fin de matinée et la ponte se produit au crépuscule. Sachant que la ponte de l'ombrine se produit aussi au crépuscule (Holt *et al.*, 1985), et que les prélèvements de novembre ont été effectués entre 8 et 9h, il est possible que sa maturation finale se déroule de la même façon. Une succession de plusieurs biopsies dans la même journée devrait permettre de vérifier cette hypothèse.

La vitellogenèse au sens large correspond aux stades alvéoles corticales, globules vitellins et noyau en migration. Elle est sous le contrôle de gonadotropines synthétisées par l'hypophyse en réponse à un médiateur venant de l'hypothalamus, lui même stimulé par des conditions environnementales particulières (Harvey et Hoar, 1980). La phase de vitellogenèse est donc restreinte à une période de l'année durant laquelle les stimuli environnementaux sont présents. Lorsque deux stocks de poissons identiques ne sont pas soumis au même moment aux stimuli induisant la vitellogenèse, les périodes de début de la vitellogenèse ne seront pas les mêmes et la saison de ponte sera décalée.

En Caroline du nord (Ross *et al.*, 1995), les premières pontes ont lieu fin juillet début août. Au nord du Golf du Mexique (Wilson et Nieland, 1994), dans les eaux des états du Mississippi (Overstreet, 1983), de Louisiane (Fitzhugh *et al.*, 1988) et d'Alabama (Comyns *et al.*, 1991), elles se produisent entre fin août

et début septembre. En Floride, la saison de ponte débute dès la mi-septembre (Murphy et Taylor, 1990). Au Texas, elle commence fin septembre (Pearson, 1928). En 1997, en conditions tropicales martiniquaises, la saison de ponte a commencé à la mi-octobre. Il apparaît donc clairement que la saison de ponte est d'autant plus tardive que la latitude diminue.

Ce décalage du début de la saison de ponte s'observe aussi pour l'apparition des stades ovocytaires de la vitellogenèse au sens large alvéoles corticales, globules vitellins et noyau en migration. Ainsi par exemple, en Martinique, les premiers ovocytes au stade globules vitellins sont observables à partir du mois de septembre. Ils le sont dès le mois de juillet en Caroline du nord (Ross *et al.*, 1995), dès le mois d'août en Louisiane (Fitzhugh *et al.*, 1988) et en Floride (Murphy et Taylor, 1990).

Chez l'ombrine comme chez d'autres Sciaenidés tels que *Cynoscion nebulosus* et *Cynoscion xanthurus*, la température et la photopériode sont les deux facteurs environnementaux les plus importants pour induire le développement gonadique puis la ponte (Thomas *et al.*, 1995). Aussi, tous les travaux menés depuis 1975 sur le conditionnement de reproducteurs d'ombrine pour stimuler le développement gonadique mâle et femelle sont basés sur le contrôle de la température et de la photopériode. Ainsi, en 1975, le premier conditionnement d'ombrine en captivité a été réalisé avec une température variant entre 16 et 27°C et une durée d'éclairement comprise entre 9 et 15h (Arnold *et al.*, 1979). Les pontes ont été obtenues à 23°C pour une durée du jour de 9h. Roberts *et al.* (1978) ont testé au cours des deux années suivantes quatre cycles thermiques photopériodiques différents ayant pour point commun une variation de la température et de la photopériode comprise entre 20 et 30°C pour l'un et 9 et 16 h pour l'autre. Les pontes ont été obtenues pour une température et une durée du jour variant respectivement entre 21 et 26°C et 9h et 10h15 en fonction des cycles. Depuis, une variation simultanée de la photopériode et de la température de 17°C à 30°C et de 9h à 16h constitue le conditionnement de référence pour obtenir des pontes d'ombrine (Roberts, 1990). Avec un tel cycle, la ponte se produit lors du refroidissement de l'eau et du raccourcissement de la durée du jour, 50 jours après le pic à 30°C et 16h de jour. La formation des alvéoles corticales se produit avant ce pic, celle des globules vitellins après. En conditions tropicales martiniquaises, la croissance ovocyttaire se déroule au cours d'une phase de montée constante de la température (de 29 à 30°C) mais de très faible amplitude, et de chute de la durée du jour (de 13h00 à 12h00). La ponte a lieu quelques jours après le léger pic de température à 30,1°C à une durée d'éclairement voisine de 12h00. Pour les expériences américaines, le développement ovocyttaire se déroule dans des conditions de forte croissance puis décroissance simultanée de la température et de la photopériode. Pour les expériences martiniquaises, il se produit au cours d'une période de faible augmentation de température et de

diminution moyenne de photopériode. Les corrélations entre les variations de température et de photopériode et le développement ovocytaire sont donc assez difficiles à établir. Il est possible que d'autres facteurs interviennent. Arnold (1991) a d'ailleurs réussi à obtenir des pontes après une période de 10 mois de température et de photopériode constantes.

### CONCLUSION

La réalisation de biopsies ovariennes à l'aide d'une pipelle de Cornier, suivie d'une observation de l'ovocyte entier après éclaircissement au liquide EFA, permet un suivi facile, rapide, peu coûteux et à priori peu traumatisant, du développement gonadique d'un stock de géniteurs.

En conditions tropicales martiniquaises, le développement ovocytaire de l'ombrine se déroule entre août et octobre. Sa cinétique est comparable à celle observée dans les eaux subtropicales nord américaines. Cependant, il se déroule plus tardivement dans l'année. Au cours de cette période, les variations de température et de photopériode sont faibles. En effet, entre le 1<sup>er</sup> juillet et le 1<sup>er</sup> novembre la température augmente seulement de 29 à 30°C et la durée d'éclairement ne chute que de 13 à 12h. La saison des pontes commence à la mi-octobre.

Ces résultats sont positifs, ils prouvent que la production d'oeufs en Martinique est possible sans avoir recours à un contrôle de la température et de la photopériode en circuit fermé coûteux en énergie et en infrastructures. De plus, si l'on souhaite tout de même produire des oeufs en dehors de la saison de ponte naturelle grâce à des pontes décalées, alors la faible amplitude de température nécessaire au conditionnement de type martiniquais autorisera de substantielles économies d'énergie.

Cependant, il faut malgré tout au préalable s'assurer de la qualité des pontes localement par rapport à celles obtenues en recréant les conditions thermiques et photopériodiques de l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Ce sera la prochaine étape de nos recherches sur la physiologie de la reproduction de l'ombrine en Martinique.

### RÉFÉRENCES

- Arnold, C.R., W.H. Baily, T.D. Williams, A. Johnson and J.L. Lasswell. 1979. Laboratory spawning of red drum and southern flounder. *Proceeding of the Annual Conference Southeastern Association of Fish and Wildlife Agencies* 31(1977):437 - 440.
- Arnold, C.R. 1988. Controlled year-round spawning of red drum *Sciaenops ocellatus* in captivity. *Contribution in Marine Science* 30 (Supp.):65 - 70.

Proceedings of the 50th Gulf and Caribbean Fisheries Institute

- Arnold, C.R. 1991. Precocious Spawning of Red Drum. *The Progressive Fish-Culturist* **53**:50 - 51.
- Bearden, C.M. 1967. Salt-water impoundments for game fish in South Carolina. *Progressive Fish-Culturist* **39**:123 - 128.
- Beckman, D.W., C.A. Wilson and A.L. Stanley. 1988. Age and growth of the red drum *Sciaenops ocellatus*, from offshore waters of the northern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin* **87**:17- 28.
- Boothby, R.N. and J.W. Avault, Jr. 1971. Food Habits, Length-Weight Relationship, and Condition Factor of the Red Drum (*Sciaenops ocellata*) in Southeastern Louisiana. *Trans. Am. Fish. Soc.* **100**:290 - 295.
- Bromage, N. and R. Cumarantunga. 1988. Egg Production in the Rainbow Trout. Pages 65 - 138 in: J.F. Muir and R.J. Roberts, (eds.) *Recent Advances in Aquaculture. Vol 3*. Croom Helm, London, England.
- Brown-Peterson, N., P. Thomas and C.R. Arnold 1988. Reproductive biology of the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*, in south Texas. *Fish. Bull.* **86**(2):373 - 388.
- Comyns, B.H., J. Lyczkowski-Schultz, D.L. Nieland and C.A. Wilson. 1991. Reproduction of Red Drum, *Sciaenops ocellatus*, in the Northcentral Gulf of Mexico : Seasonality and Spawner Biomass. Pages 17 - 28 in: R.D. Hoyt (ed.) *Larval fish recruitment and research in the Americas., Dep. Commer., NOAA Tech. Rep.NMFS 95*.
- Derozier, C. 1989. *L'anesthésie du poisson au phénoxy-2 ethanol*. Thèse de docteur vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 100 p.
- de Vlaming, V. 1983. Oocyte development patterns and hormonal involvements among teleost. Pages 176 - 199 in: J.C. Ranking, T.J. Pitcher, and R.T. Dugan (eds.) *Control Processes in Fish Physiology*. John Wiley and Sons. London, England.
- Fitzhugh, G.R., T.G.Snyder III and B.A. Thompson. 1988. Measurement of ovarian development in red drum (*Sciaenops ocellatus*) from offshore stocks. *Contribution in Marine Science*.**30** (Supp.):79 - 86.
- Foucher, R.P. and R.J. Beamish. 1977. A review of oocytes development in fishes with special reference to Pacific hake, (*Merluccius productus*). Canadian Fisheries and Marine Service Technical Report N°755.
- Franz, V. 1910. Die Eiproduktion der Scholle (*Pleuronectes platessa* L.). *Wiss. Meeresunters., Helgoland, N.F.* **9**:59 - 141.
- Harvey, B. and W.S. Hoar. 1980. La reproduction provoquée chez les poissons : Théorie et pratique. *IDCR, Ottawa, Canada*. 48p.
- Henderson-Arzapalo, A. 1992. Red drum aquaculture. *Rev. Aquat. Sci.* **6**:479-491.

- Holt, G.J., A. Scott and C.R. Arnold. 1985. Diel periodicity of spawning in sciaenids. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **27**:1 - 7.
- Holt, G.J. and C.R. Arnold. 1983. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red drum eggs and larvae. *Transactions of the American Fisheries Society* **112**:314 - 318.
- Holt, G.J., A.G. Johnson, C.R. Arnold, W.A. Fable Jr. and T.D. Williams. 1981a. Description of eggs and larvae of laboratory reared red drum, *Sciaenops ocellata*. *Copeia* **4**:751-756.
- Holt, G.J. and R. Godbout and C.R. Arnold. 1981b. Effects of temperature and salinity on egg hatching and larval survival of red drum, *Scianops ocellata*. *Fishery Bulletin*, **79**(3):569 - 573
- Johnson, D.R. and N.A. Funicelli. 1991. Spawning of red drum in Mosquito Lagoon, east-centra Florida. *Estuaries*, **14**(1):74 - 79.
- Lawson, T.B., C.M. Drapcho, S. McNamara, H.J. Braud and W.R. Wolters. 1989. A Heat Exchange System for Spawning Red Drum. *Aquacultural Engineering* **8**:177 - 191.
- Lunz, G.R. 1956. Harvest from an experimental one-acresalt water pond at Bears Bluff Laboratories, South Carolina. *Progressive Fish-Culturist* **18**:92 - 94.
- Lux , F.E. and J.V. Mahoney. 1969. First records of the channel bass, *Sciaenops ocellata* (Linnaeus), in the Gulf of Maine. *Copeia* **3**:632 - 633.
- Matlock, G.C. 1992. Growth of five fishes in Texas bays in the 1960s. *Fishery Bulletin* **90**(2):407 - 411.
- Mugnier, C. 1996. Analyse morphologique et endocrinienne des dernières étapes de l'ovogenèse et recherche d'un traitement de l'induction de l'ovulation chez le turbot *Scophthalmus maximus* L. M.S. Thesis. U.F.R. : Science de la Vie et de l'Environnement, Université de Rennes I, France. 100 p.
- Murphy, M.D. and R.G. Taylor. 1990. Reproduction, Growth, and Mortality of Red Drum *Sciaenops ocellatus* in Florida waters. *Fishery Bulletin* **88**:531 - 542.
- Nagahama, Y.,1983. The functional morphology of teleost gonads. Pages 223 - 275 in: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (eds.) *Fish physiology*, Vol. IX., Academic Press, New York., USA.
- Overstreet, R.M. 1983. Aspects of the biology of the red drum, *Sciaenops ocellatus*, in Mississippi. *Gulf Research Reports Supplement* **1**:45-68.
- Pearson, J.C. 1929. Natural history and conservation of the red fish and other commercial sciaenids of the Texas coast. *Bull. U.S. Bur. Fish.* **44** : 129 - 214.

Proceedings of the 50th Gulf and Caribbean Fisheries Institute

- Peters, K.M. and R.H. Mc Michael, Jr. 1987. Early life history of *Sciaenops ocellatus* (Pisces : Sciaenidae) in Tampa Bay, Florida. *Estuaries* **10**:92 - 107
- Pitt, T.K. 1964. Fecondity of the American plaice, *Hippoglossoides platessoides* (Fabr.) from the Grand Bank and Newfoundland areas. *J. Fish. Res. Bd Can.* **21**:597 - 612.
- Plaia, W.C. 1987. A Computerized Environmental Monitoring and Control System for Use in Aquaculture. *Aquacultural Engineering* **6**:27 - 37.
- Roberts, D.E. 1990. Photoperiod/Temperature control in the commercial Production of Red Drum (*Sciaenops ocellatus*) Eggs. Pages 35 - 43. in: G.W. Chamberlain, R.J. Miget and M.G. Haby (eds.) *Red Drum Aquaculture*. Texas A & M University Sea Grant College Program No. TAMU-SG-90-603.
- Roberts, D.E., Jr. and E.W. Truby. [1978]. A description of the vitellogenic stages of oocytes in the red drum, *Sciaenops ocellata*, with notes on ultrastructure. (Unpublished manuscript).
- Roberts, D.E., Jr., B.V. Harpster and G.E. Henderson. 1978. Conditioning and induced spawning of the red drum (*Scianops ocellata*) under varied conditions of photoperiod and temperature. *Proceeding of the World Mariculture Society* **9**:311 - 332.
- Roberts, D.E., Jr., R.O. Reese, H.J. Grier and R. MacGregor. 1988. Regime spawning of red drum, *Sciaenops ocellatus* : Cyclical effects on serum steroids, gonadal cytology and ultrastructure. (Summary only) *Contribution in Marine Science*. **30** (Supp.):194 - 195.
- Roos, J.L., T. M. Stevens and D.S. Vaughan. 1995. Age, Growth, Mortality, and Reproductive Biology of Red Drum in North Carolina Waters. *Transaction of the American Fisheries Society* **124**:37 - 54.
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1986. Gamatogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *Am. Zool.* **26**:173 - 192
- Selman, K. and R.A. Wallace. 1989. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zoological Science* **6**:211 - 231.
- Simmons, E.G. and J.P. Breuer. 1962. A study of red fish, *Sciaenops ocellata* Linnaeus and black drum, *Pogonia cromis* Linnaeus. *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Tex.* **8**:184 - 211.
- Soletchnik, P., E. Thouard, E. Goyard, C. Yvon and P. Baker. 1988. First larval rearing trials of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in Martinique (French West Indies). *Contribution in Marine Science*. **30** (Supp.):125 - 130.

- Soletchnik, P., E. Goyard, E. Thouard. 1991. Mise au point technique de l'élevage de l'ombrine *Sciaenops ocellata* en Martinique. *Cahiers du pôle Caraïbe* 27.
- Thacker, S.G. and W.L. Griffin. 1994. Indoor Intensive Red Drum Aquaculture : A Stochastic Sensitivity Analysis. *Journal of the World Aquaculture Society* 25(1):86 - 99.
- Thomas, P., C.R. Arnold, G.J. Holt. 1995. Red Drum and Others Sciaenids. Pages 118 - 137 in: N.R. Bromage and R.J. Roberts (eds.) *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, Oxford.
- Thouard, E., P. Soletchnik and J.P. Marion. 1990. Selection of finfish species for aquaculture development in Martinique (F.W.I.). *Aquaculture* 89:193 - 197.
- Wallace, R.A. and K. Selman. 1981. Cellular and Dynamic Aspects of Oocyte Growth in Teleosts. *American Zoologist* 21:325 - 343.
- Wallace, R.A., K. Selman, M.S. Greeley, Jr., P.C. Begovac, Y.-W. Lin, R. McPherson and T.R. Petrino. 1987. Current status of oocyte growth. Pages 167 - 177 in: D.R. Idler, L.W. Crim, and J.M. Walsh (eds.) *International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*. Memorial University of Newfoundland : St Johns.
- Wilson A.C. and D.L. Nieland. 1994. Reproductive biology of red drum, *Sciaenops ocellatus*, from the neritic waters of the northern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin* 92:841 - 850.
- Yamamoto, N. 1956. Studies on the Formation of Fish Eggs. I. Annual Cycle in the Development of Ovarian Eggs in the Flounder, *Liopsetta obscura*. *J. Fac. Sci. Okkaido Univ. Ser. VI, Zool.* 12:362 - 373.
- Zimmermann, M. 1997. Maturity and fecundity of arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*, from the gulf of Alaska. *Fish. Bull.* 95:598 - 611.