

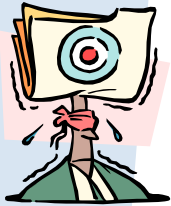
# IA REPRODUCTION DE L'OURSIN

Travaux pratiques : fécondation et phases larvaires

## PLAN :

1. Généralités sur l'oursin
2. Travaux pratique : Fécondation
3. Le larvaire
4. La métamorphose
5. Le cycle du larvaire

## OBJECTIFS :



- ▶ Assurer les bonnes conditions d'élevage
- ▶ réaliser les opérations liées à la conduite de la production aquacole.

**Mots clés :** fécondation, travaux pratique, oursin, larvaire

## Lien avec les référentiels de formation :

- BEPA : C8(C8-2;C8-3),
- 2nde Bac Pro : EP3
- Bac Pro : MP63,MP64
- BPAM : Ucare éclosionerie
- BPREA : Ucare éclosionerie
- BTSA : M52

## 1. Généralités

A première vue, les oursins pourraient être assimilés à des petites boules de piquants immobiles et sans grand intérêt. Loin de cette idée reçue, ils sont comparables aux étoiles de mer, bien plus attrayantes, car ils appartiennent à la même famille : les Echinodermes.

Leurs fonctions de mobilité et de nutrition sont suffisamment avancées pour leur assurer une vie autonome face à la force des océans. Néanmoins, ils représentent une proie facile pour de nombreux prédateurs tels que les oiseaux, les poissons et les crustacés.

■ Appartenant à l'embranchement des Echinodermes, les oursins sont des Echinidés. Ce nom caractérise leur corps globuleux et recouvert de piquants.

■ Outre des épines, le corps des oursins est également recouvert de pieds ambulacraires ou podias. Ce sont des appendices fins se terminant par une ventouse photos. Permettant à l'animal de se fixer sur différents supports. Ils sortent du test par des petits orifices et sont disposés en 5 rangées allant de la face supérieure à la face inférieure de l'animal.

■ Plus perfectionnés que les pieds ambulacraires, les pédicellaires sont de minuscules appendices terminés par une pince constituée de 3 mors. Ils permettent à l'oursin de nettoyer son test et peuvent être associés à des glandes venimeuses, ils sont alors organes de défense.

■ En France, on trouve communément trois espèces différentes : *Psammochinus miliaris* ; *Paracentrotus lividus* ; *Sphaerechinus granularis*, mais seules deux ont un intérêt comestible. (*paracentrotus lividus* ; *Sphaerechinus granularis*).



*Paracentrotus lividus* (source JG Hamelin)



*Sphaerechinus granularis*  
(Patrick Petit de voize)

■ L'espèce *Paracentrotus lividus* atteint un diamètre de 5 cm. Ses piquants sont longs, fins et pointus de couleur vert ou violet. Il est récolté sur les côtes atlantique, en Manche et en méditerranée (entre 0 et 50 m).

- L'espèce *Sphaerechinus granularis* (bleu, blanc) a une forme plus aplatie et atteint des tailles plus importantes que l'espèce *Paracentrotus lividus* (atteint une taille de 12cm de diamètre). Il est pêché entre 0 et 50 m, sur les cotes de la façade atlantique française.
- Les oursins juvéniles et adultes sont benthiques. Ils se nourrissent d'algues (laminaires ou de préférence des algues rouges), de coquilles de coquillages, d'os de seiche, de maërls pour constituer leurs tests.
- Après la fécondation, les différents stades de la larve d'oursin mènent une vie pélagique c'est à dire qu'ils évoluent à la surface de l'eau grâce au courant. Ils font alors partie du plancton, se nourrissent d'algues unicellulaires. Vers l'âge de trois semaines de vie planctonique, les larves vont ensuite se métamorphoser. Le juvénile d'oursin qui en est issu va se fixer sur le fond et se nourrir de macro algues et de diatomées benthiques. Ainsi, la nutrition de ces animaux est adaptée à ces deux moments de leur vie. Les larves sont des filtreurs de phytoplancton et les juvéniles et adultes sont des brouteurs de macroalgues.

## 2. TRAVAUX PRATIQUES : FECONDATION DE L'OURSIN

La ponte des oursins peut être stimulée par choc thermique ou choc osmotique (injection de chlorure de potassium ou chlorure de sodium dans la membrane qui constitue la bouche). On isole alors chaque individu afin de récupérer séparément les gamètes.

### ■ Bilan matériel

Matériel	Quantités
Bechers en verre (1 par géniteur)	10
Bechers en plastiques (3 à 5 litres)	4
Sceaux	2
Eau de mer filtrée (de 5 à 1 microns)	20 litres
Thermoplongeurs (choc thermique)	1
Thermomètres (choc thermique)	2
Seringue de 5ml (choc osmotique)	1
Tamis de 40 microns	1
Tamis de 150 microns	1
Microscopes	1 par binôme (au mieux) ou 1 avec camera vidéo
Observations microscopiques	
Lames	10
Lamelles	10
Pipettes pasteur	10
(pour le comptage d'œufs ou de larves)	
Pipettes de 10ml	2

### ■ Protocole de fécondation

- Géniteur d'oursins :
  - *Paracentrotus lividus* : individus de plus de 5 cm (taille de pêche réglementaire)
  - *Sphaerechinus granularis* : individus de plus de 8 cm (taille de pêche réglementaire)
- Quantité de géniteurs : 10 individus minimum
- Période : de mars à octobre

## VOUS DEVEZ AVANT LE TP :

Ouvrir deux géniteurs pour observer le remplissage des gonades. Ainsi vous serez s'ils sont prêts à pondre.

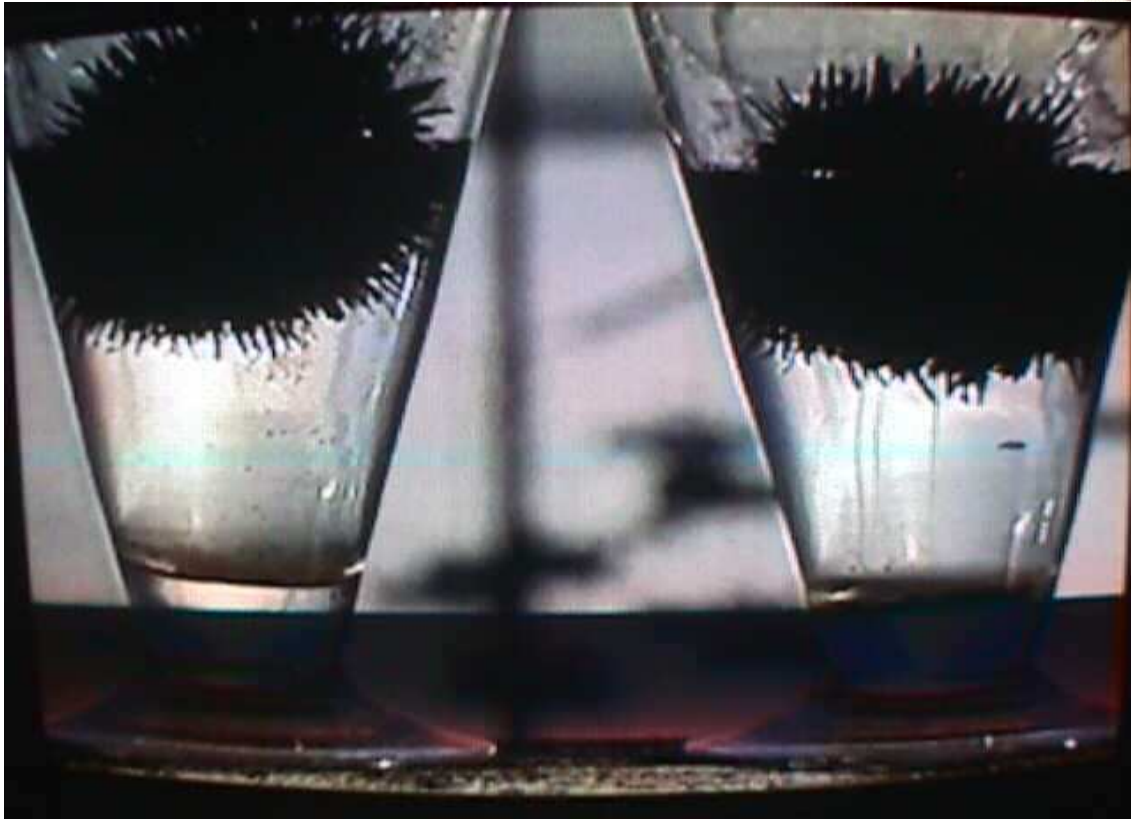
### A. LE CHOC

- Pour le choc thermique :  
Il faut réaliser un choc thermique de 10°C.  
Préparer la *veille de l'eau de mer filtrée à 1 micron au mieux et chauffée à 28°C*. Les géniteurs sont maintenus auparavant dans de l'eau entre 16°C et 20°C.  
  
→ Isoler les géniteurs dans les bechers en verre, rempli avec de l'eau à 28°C.  
Attendre un dizaine de minutes.  
Entre 1 à 10 minutes vous observez un liquide blanc (spermatozoïdes) ou des granulats de couleur rose-orange (ovules).
- Pour le choc osmotique :  
Préparer 50 ml de chlorure de potassium en poudre (ou de chlorure de sodium) dilué dans de l'eau déminéralisée (concentration finale de 60 g/l).  
  
→ Préparer les bechers en verre (1 par géniteur) en les remplissant avec de l'eau de mer filtrée à 1 micron.  
Injecter 1 ml de la solution de chlorure de potassium ou de sodium dans la membrane souple autour de la bouche (face du dessous).

Si vous n'obtenez rien avec l'une ou l'autre des techniques, vous ouvrez l'oursin pour observer les gonades, en faisant un prélèvement avec une pipette pasteur stérile.

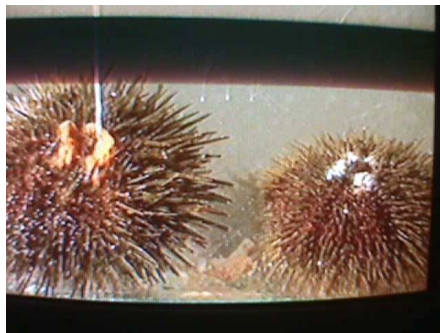
Si les spermatozoïdes sont immobiles, c'est qu'ils ne sont pas matures.

Si les ovocytes sont difformes, petits (<20microns) et paraissent percés, ils sont immatures.



femelle qui expulse ses gamètes

Male qui expulse ses gamètes



Vous devez laisser le géniteur émettre ses gamètes pendant 10 à 15 minutes.  
Puis vous pouvez faire un prélèvement pour observer au microscope.



## B. LA FECONDATION:

### ◆ Matériel

Matériel	Quantité
Bechers (3 à 5 litres) 2 pour les réserves 1 pour les spermatozoïdes 1 pour les ovocytes	4
sceau avec de l'eau à température ambiante pour la fécondation en choc osmotique ou avec de l'eau chauffée à 28°C pour le choc thermique (thermoplongeur placé dans le sceau).	1
Tamis de 40 microns	1
Tamis de 150 microns	1
Observations microscopiques Lames Lamelles Pipettes pasteur (pour le comptage d'œufs ou de larves) Pipettes de 10ml	10 10 10 2

## C. LAVAGE DES GAMETES:

- Après un délai de 10 minutes, vous devez avoir obtenu environ 100 ml de spermatozoïdes et 100 ml d'ovocytes.
- Vous devez nettoyer les gamètes mâles et femelles :
  - ⊗ En passant doucement les gamètes mâles sur le tamis de 40 microns avec de l'eau de mer filtrée à 1 micron.  
Les spermatozoïdes vont passer à travers le tamis et être déversés dans le becher.
  - ⊗ Idem pour les gamètes femelles sur le tamis de 150 microns.

## D. FECONDATION

Quand les gamètes sont propres, observez les au microscope.

Vous pouvez féconder :

→ Dans le becher contenant les ovocytes, vous versez le volume de 3 à 4 ml de spermatozoïdes.  
Vous homogénéisez lentement.

→ Attention de ne pas mettre trop de spermatozoïdes pour **EVITEZ LA POLYSPERMIE**

**Définition Polyspermie** : Plusieurs spermatozoïdes fécondent l'ovule, cela donne des avortons.

Observez au microscope : Si vous obtenez dans votre goutte une majorité (environ 20) « d'œufs fécondés » (« ovocytes avec la membrane autour ») vous pouvez laisser ainsi.

Sinon, vous ajoutez 3 ml de spermatozoïdes.

Vous observez à nouveau pour ajouter ou non des spermatozoïdes

Photo œufs fécondés.





### 3. le larvaire

Matériel	Quantité
Bac cylindrique (10,20,100litres...)	Au moins 2
Diffuseur d'air ; sur presseur ; compresseur	1 par bac 1 pour la structure idem Le bullage doit être homogène sur toute la colonne d'eau.
Eau de mer filtrée a 1 micron	Consommation journalière : 2*le volume du bac larvaire
Phytoplancton : <i>Dunaliella tertiolecta</i> (Concentration optimale $1 \cdot 10^6$ cell/ml)	Pour 10 larves/ml donner 2000cellules/larves/jours Soit pour un volume larvaire de 100litres, on donne 2 litres/jrs. Toujours vérifier l'état des larves et le remplissage de l'estomac avant de nourrir.
Tamis maillages	80microns pour des larves de 90-100microns à j2 120microns pour des larves de 120- 160microns à j10 180microns a partir de j13
température	18°C

#### Méthodes

##### A. Observations à faire au quotidien :

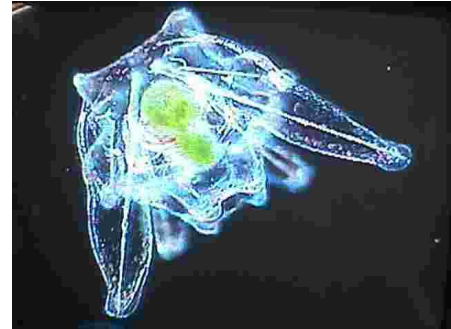
Vous devez observer le *contenu du bac larvaire*.

Pour identifier les problèmes éventuels :

- Un courant mal diffuser dans la colonne d'eau.
- Une ration trop importante.
- Une odeur d'hydroxyde de soufre en cas de mortalité.

Observez les *larves au microscope*

- Pour vérifier la ration de phytoplancton à donner.  
On observe le remplissage ou non de l'estomac de la larve.
- Pour observer le stade larvaire.
- Pour observer une contamination ou non ( protozoaires, bactérien...)



## B. Les changements d'eau :

<b>Maillage du tamis (microns)</b>	80	120	150	200
<b>Largueur minimales des larves (microns)</b>	90-100	100-120	120-180	>200
<b>Agés</b>	Dej0 à j7	Dej8 à j13	De j13 à la métamorphose	Stade juvénile

### **Les changements d'eau se font en fonction :**

- des volumes d'élevage larvaire,
- de la mortalité,
- de la consommation de phytoplancton
- de la densité de larves.

Pour un bac de 100litres : changement d'eau total tous les deux jours.

Pour un volume inférieur à 50 litres : tous les jours.

Pour éviter le choc thermique vous devez préparer de l'eau à température (la veille).



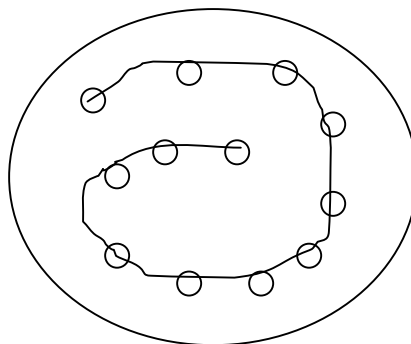
### La technique :

1. Préparez le tamis
  2. Un bac d'eau de mer a température ou vous positionner le tamis.
  3. Siphonnez la totalité de l'eau du bac larvaire.  
Les larves sont déverser sur le tamis.
1. Laver les larves délicatement avec de l'eau à température.
  2. Passer les larves dans le bac larvaire rempli avec de l'eau à température.
  3. Vérifiez le bullage.
  4. Faire un prélèvement pour faire un comptage ( cf tp comptage) et observer les larves.

### C. TP comptage des larves.

Vous prélevez des larves avec une pipette graduée (1 ml par exemple).

- Deux façon de faire :
- Vous comptez dans la pipette la nombre de larve et vous calculez le nombre de larves par ml.
  - Vous disposez 1 ml de larves dans une boite de pétrie (en plastique) en faisant des gouttes pas trop grosses.  
Au microscope vous compte le nombre de larves par goutte.



- Il existe des cellules de comptage « cellule de Dolfuss », « cellule de sedwidge » pour compter du zooplancton ou des organismes de plus de 100microns.

## 4. la métamorphose

Lorsqu'on voit l'apparition de ( petits crochets) appelés pédicellaires

Vous pouvez commencer a préparer un bac a fond plat et y déverser 2 litres de *dunaliella tertiolecta*.

Le phytoplancton va se déposer au fond.  
Dès que la majorité des larves ont des pédicellaires apparent vous les déversez dans le bac de métamorphose.

Après la métamorphose les larves vont se mettre a brouter le phytoplancton sur le fond.

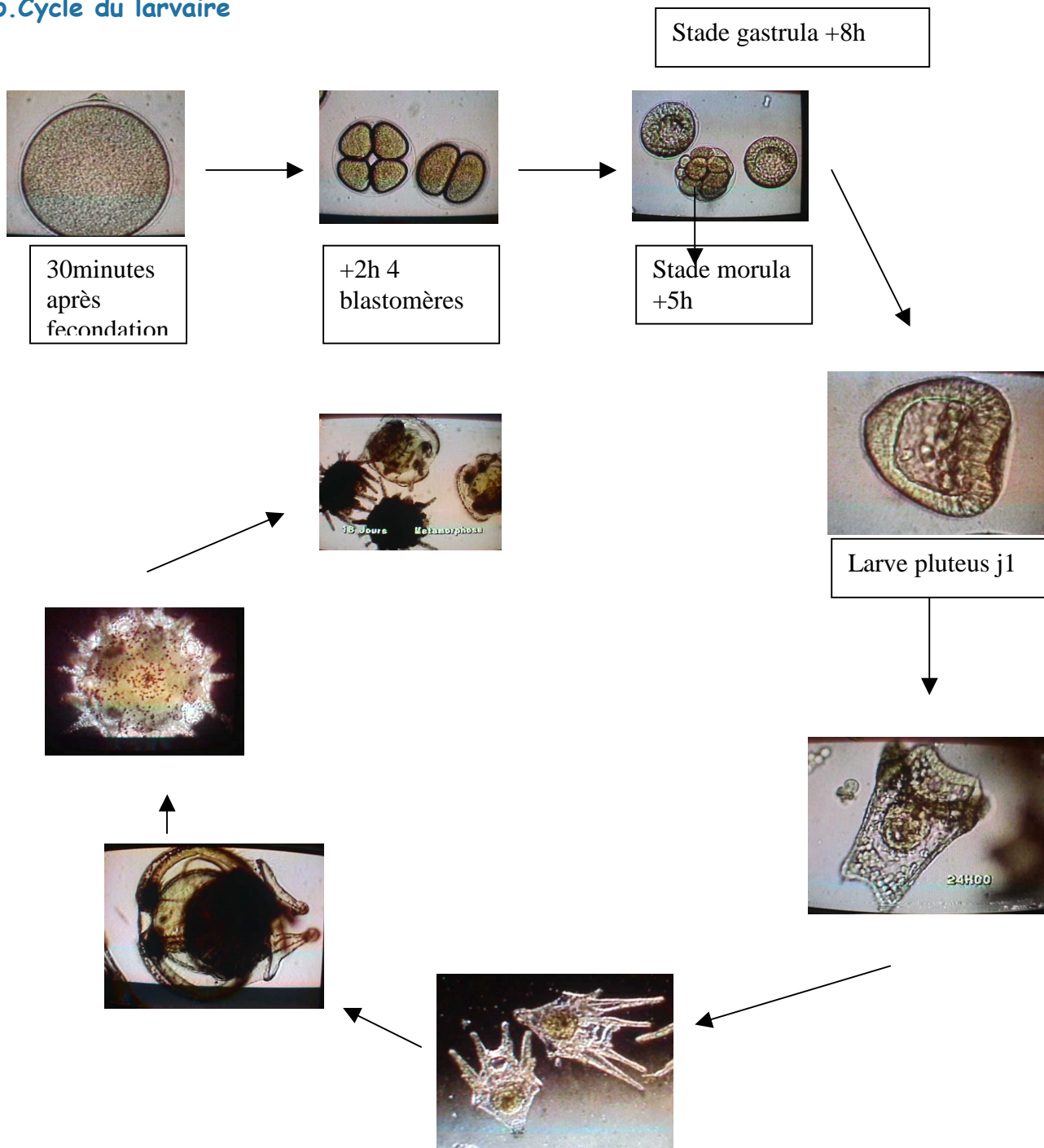
Une autre technique existe avec des plaques de fixation comme pour l'ormeau.



Photo pedicallaire



## 5. Cycle du larvaire






Pour en savoir plus...

## Bibliographies

 **Ouvrages** : Du piquant en aquaculture.2000.Monard Cecile.CEMPAMA

 **Crédit photos** : Claude Yven, Mr quelen

Contact pour se procurer des géniteurs en hiver : entreprise Oursine de ré  
Tel :05.46.66.54.08

Rédaction de fiche :Morgane Nedelec, [morgane.nedelec@educagri.fr](mailto:morgane.nedelec@educagri.fr)

Reclecteurs et valorisation scientifique :

Isabelle Cancre Lycée Maritime de Etel [isabelle.cancre@educagri.fr](mailto:isabelle.cancre@educagri.fr)

Sebastien Henry CNRS Roscoff