

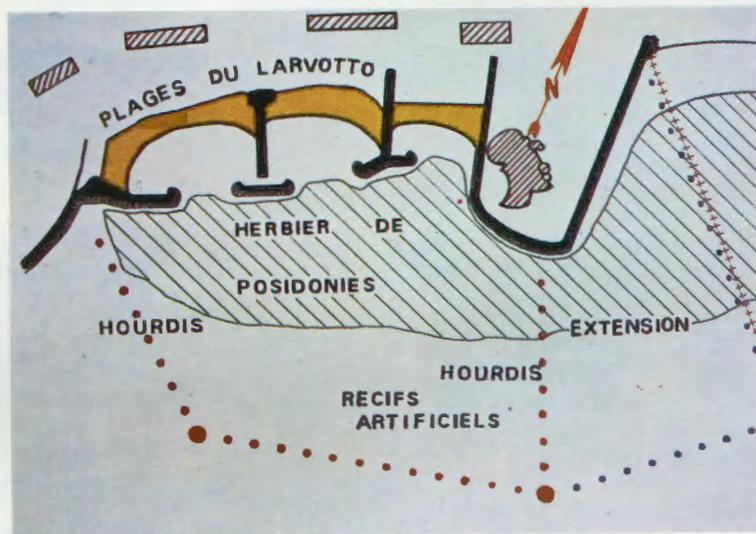
Association Monégasque pour la Protection de la Nature



Compte-rendu des activités 1986/1987



Association Monégasque pour la Protection de la Nature



Réserve sous-marine de Monaco

Compte-rendu des activités 1986-1987

Couverture :

Glossodoris Valencianensis sur éponge encroûtante

Photo : Roberto Pronzato



Réserve à corail (délimitée par des bouées jaunes).

Photo : Christian Giordan

Création d'une Réserve à corail en bordure du littoral de la Principauté

Depuis plusieurs années, un véritable cri d'alarme a été lancé sur les bords de la Méditerranée par les autorités scientifiques, les organismes chargés de la coordination des pêches maritimes, les associations de protection de la nature afin qu'il soit mis fin au pillage des stocks de corail rouge avant que ce dernier ait comme d'autres espèces complètement disparu.

Conscient de l'importance particulière d'une situation au devenir catastrophique, le Conseil Général des Pêches pour la Méditerranée dans sa 17^{ème} session (Rome : 17/21 septembre 1984) à l'unanimité de ses membres dont le représentant de Monaco a demandé que soient rapidement étudiées des mesures pratiques pour que le corail rouge soit effectivement protégé. Parmi ces mesures figuraient notamment la création de zones spécifiques où la cueillette du corail serait interdite et des dispositions juridiques prises pour arrêter les dommages dus à la pêche côtière par tous engins (filets, nasses, etc...). Le Président de l'A.M.P.N. qui assistait à cette session proposait au Gouvernement Princier la réalisation d'une réserve protégée à l'Est du Port de la Condamine, au pied de la Pointe Focignana où se trouve par 40 mètres de profondeur l'unique zone coralligène de la Principauté.

C'est ainsi que S.A.S. le Prince Rainier III par une Ordonnance du 18 août 1986 organisait cette réserve. Notre association assurait sa réalisation matérielle par la pose des huit bouées délimitant son périmètre (la superficie est d'un hectare environ). Elle est aujourd'hui créée et nous en assurons la surveillance conjointement avec les services de police afin que ce coin peu connu de notre littoral, merveilleux par la beauté du site, soit préservé de la cupidité ou de l'inconscience d'une minorité dont la seule excuse est l'ignorance.



Corallium rubrum
Corail rouge de Méditerranée

Photo : Jean-Pierre Giordano

Réfection du balisage de la Réserve

L'entretien du balisage qui délimite la Réserve reste au centre de nos préoccupations car la visualisation de l'étendue de la zone protégée est indispensable aux yachtmen afin d'éviter d'y pénétrer.

La remise en état complète que nous avons effectuée, grâce au généreux concours de M. Anastase Xanthopoulos, en mai et juin 1985 a tenu ses promesses puisque nous n'avons enregistré que des pertes relativement peu élevées pendant 18 mois. Mais la mer est ainsi faite qu'elle admet difficilement l'intervention de l'homme, si louable soit-elle, dans son domaine.

Nous avons dû à la suite des violentes tempêtes de l'hiver 1986/1987 envisager une nouvelle remise en ordre du balisage. Le matériel (50 bouées) nous a été offert par nos compatriotes M^{me} et M. Frateschi qui soutiennent notre action depuis ses débuts.

Il restait à engager les travaux au cours du printemps 1987 après avoir cherché à améliorer la tenue des pièces métalliques qui participent à la fiabilité de l'ensemble. Les pertes que nous subissons (manilles arrachées, chaînes oxydées) proviennent essentiellement de phénomènes d'électrolyse qui attaquent le métal et en diminuent la résistance jusqu'à la rupture.

Un important travail de contrôle et de réparation a été effectué par nos trois plongeurs : MM. Yves Magnani, Luc Thouant et Denis Arnould.

Après de longues heures passées sous l'eau (plusieurs dizaines de plongées) nos amis ont pu remplacer les pièces défectueuses, changer les câbles et chaînes qui avaient été détruits ou qui risquaient de l'être. Leur collaboration bénévole nous a évité une très importante dépense de main d'œuvre. Nous tenons ici à leur renouveler nos très vifs remerciements.

Réserve sous-marine de l'île de Nueva Tabarca Alicante - Espagne

Les échanges d'informations que nous avons eus depuis plusieurs années avec M. le Professeur Alfonso A. Ramos de "l'Istituto Politecnico Maritimo Pesquero del Mediterraneo" à Alicante nous ont offert l'opportunité de participer indirectement à l'organisation de la Réserve sous-marine de l'île de Nueva Tabarca. Aujourd'hui entrée dans la réalité de cette réserve de 1.000 hectares a pour objectif essentiel la protection intégrale de la faune et de la flore sous-marines.

Une très intéressante brochure éditée par M. le Professeur Ramos (Université d'Alicante) sur les travaux entrepris dans cette réserve fait un rapprochement avec nos propres travaux sur le littoral monégasque.

Emission d'un bloc de timbres poste

Dans le cadre des décisions prises par la Commission "Postes" de la Conférence Européenne des Administrations des Postes et Télécommunications (Vienne - 14/25 juin 1982) l'Office des Emissions de Timbres Poste de la Principauté a émis un bloc à l'effigie de l'Accord Ramoge et des récifs artificiels de notre Réserve.



Spirographis Spallanzii
Spirographe

Photo : Jean-François Malrieu



Sepia officinalis
Seiche commune.

Photo : Alexandre Meinesz

Des prix particuliers ont été remis à six concurrents par la Société Moravia (M. & M^{me} Luigi Frateschi).

Notre collection de photographies s'est ainsi enrichie de 43 diapositives d'une qualité exceptionnelle que nous pourrions présenter au nom de nos amis lors de congrès ou expositions. A tous nous leur renouvelons nos très vifs remerciements pour cette sympathique collaboration.

Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (F.A.O. - Rome)

Consultation technique sur la
conchyliculture en mer et les récifs
artificiels - Ancône - Italie
17/19 mars 1986

Invité à participer à cette consultation internationale le Gouvernement Princier y a délégué pour le représenter M. Michel Boisson, Chargé de Recherches au Centre Scientifique de Monaco et M. Eugène Debernardi, Chargé de Mission, délégué à l'environnement au Département de l'Intérieur.

La consultation portait sur trois dossiers particuliers :

- Les récifs artificiels

- la conchyliculture en mer
- la complémentarité entre les récifs artificiels et la conchyliculture

Huit pays du bassin méditerranéen : Algérie, Bulgarie, Egypte, Espagne, France, Grèce, Italie et Monaco y étaient représentés par 55 délégués, les débats étant présidés conjointement par :

- M. Giovanni Bombace, Directeur de l'Institut de Recherches sur la Pêche Maritime (Ancône), Président ;
- M. Jean Raimbaut, Directeur de Recherches à l'Institut Français de la Mer (Sète), Vice Président.

Il nous a été donné de présenter l'état d'avancement de nos travaux dans la Réserve sous-marine de Monaco et de constater que les réserves expérimentales en projet (Italie-France) sont conçues de telle manière qu'elles se rapprochent sensiblement de la nôtre. C'est le cas notamment de la Réserve créée en Sicile (Italie) par le Professeur Silvano Riggio de l'Institut de Zoologie de l'Université de Palerme qui a obtenu des résultats similaires (couverture algale des récifs, colonisation, etc.).

Des échanges d'informations sont prévus avec ce Professeur ainsi qu'avec les délégués de l'Algérie, de l'Egypte, de la Grèce et de l'Espagne.

A souligner la parfaite organisation de cette consultation par M. le Docteur Bombace, auteur d'importants travaux sur les récifs artificiels en mer Adriatique Nord Occidentale et qui a été par ses conseils à l'origine de la réalisation de nos propres récifs.



Mullus barbatus
Rouget de roches.

Photo : Denis Arnould

Réintroduction de l'oursin comestible "Paracentrotus lividus" dans la Réserve sous-marine de Monaco

La disparition quasi totale de nos rivages de l'oursin comestible a fait l'objet depuis juillet 1985 d'une importante opération de réintroduction dans notre zone protégée en collaboration avec la Faculté des Sciences et Techniques de St Jérôme (Marseille).

C'est ainsi que M. le Professeur Jean-Marie Peres, Membre de l'Académie des Sciences, M. le Professeur Nardo Vicente, Directeur du Centre d'Etudes des Ressources Animales Marines (Faculté des Sciences Marseille), M^{me} Marie-Berthe Régis, Maître de Conférence (Faculté des Sciences Marseille) ont confié à deux étudiants (thèse de doctorat) MM. Philippe Delmas et Gilles Gras le soin de mener à bien cette expérience.

Nous vous avons informés voici deux ans du démarrage de celle-ci. Elle s'est poursuivie activement en 1986 et 1987. En mars 1986 400 oursins ont été mis cette fois dans deux cages de 15m³ posées sur l'herbier de Posidonies afin de les soustraire aux attaques des sars et daurades qui en sont très friands. Puis le 14 avril 1987 6.000 oursins sont allés rejoindre leurs prédécesseurs. Nos plongeurs ont constaté depuis, une certaine reprise dans l'évolution de la population de cet échinoderme, de nombreux juvéniles ayant été repérés dans l'herbier de Posidonies et dans les enrochements de défense des plages.

Actes de braconnage dans la Réserve

Quinze braconniers ont été interceptés par les Services de Police en 1986. Déférés devant le Tribunal Correctionnel qui leur a infligé des amendes de 3.000 à 6.000 Frs, ils ont vu leurs matériels confisqués.

Si l'abondance des poissons qui évoluent dans notre zone protégée peut constituer une incitation à la pêche et à la chasse, rien ne saurait justifier la destruction d'une faune aujourd'hui pratiquement reconstituée. Les services de police veillent tout particulièrement, assistés par nos adhérents et par de nombreux enfants auxiliaires précieux en bien des circonstances, afin de mettre un terme à de tels actes stupides et dangereux. Dangereux notamment pour les nombreux baigneurs qui peuvent être grièvement blessés par les flèches qu'utilisent ces personnages. Des accidents ont été évités de justesse dont les conséquences auraient pu être dramatiques.

L'année 1987 a été beaucoup plus calme, la sagesse ayant sans doute prévalu. Mais que l'on ne s'y trompe, notre vigilance n'en est pas pour autant diminuée et les observateurs sont nombreux pour aider au respect d'une Réserve qui fait la joie et le plaisir des estivants qui fréquentent nos plages.

A cet égard qu'il nous soit permis de remercier tout particulièrement les trois fonctionnaires de police (MM. Faggio, Oliva et Guignon) qui assurent avec beaucoup de compétence la sécurité et la surveillance des plages et bien évidemment de la zone protégée pendant la période estivale.

Attribution d'une bourse d'étude

Sur proposition de notre collègue Denis Allemand, le Conseil d'Administration de l'A.M.P.N. a attribué une bourse d'étude à un jeune étudiant M. Philippe Walter qui prépare un Diplôme d'Etudes Approfondies au laboratoire de Physiologie Cellulaire et Comparée de l'Université des Sciences de Nice (année universitaire 1987/1988).

Le travail de recherche intitulé "Effet médiateur du calcium dans la toxicité du mercure - mise au point d'un test physiologique de la santé d'un écosystème" sera effectué conjointement au Laboratoire de l'Université et dans la Réserve sous-marine de Monaco, sur les oursins comestibles dans le cadre de l'expérience de réintroduction de cet échinoderme.

La bourse ainsi attribuée reste dans le droit fil de la donation faite à notre Association par la Fondation Alexandre Onassis.

Construction d'un récif artificiel pyramidal dans la Réserve Sous-Marine de Monaco

Il est bien connu que l'industrie du bâtiment génère obligatoirement certains "déchets" qu'il est indispensable d'éliminer en fonction de l'état d'avancement des chantiers.

Grâce à la collaboration des services techniques du Département des Travaux Publics nous avons été informés à la fin 1986 que l'entreprise construisant un immeuble dans la zone industrielle de Fontvieille allait devoir évacuer en décharge 35 éléments parallélépipédiques en béton armé d'un poids unitaire de deux tonnes ayant la forme d'une boîte de 1,80 m par 1,40 m et une hauteur de 0,70 m (épaisseur des parois 0,10 m).

Ce matériel nous a été proposé par M. Bernard Fautrier, Conseiller de Gouvernement pour les Travaux Publics et les Affaires Sociales en vue de l'éventuelle construction d'un récif artificiel.

Du point de vue économique l'opération était rentable puisqu'elle évitait des frais de démolition et de transport. Quant au plan des intérêts qui sont les nôtres, l'équipement de la Réserve avec un récif de grandes dimensions présentait un avantage certain.

Les services techniques prenaient ainsi l'initiative de réaliser ce récif en confiant à une entreprise locale le soin d'immer-



Récif pyramidal (alvéoles intérieures) - Labre et feuilles de Posidonia océanica.
Photo : Jean-Noël Monot



Récif pyramidal - Inspection d'une alvéole. Photo : Jean-Michel Mille

l'immersion s'est faite le 5 janvier 1987 à une profondeur de 16 mètres. La pyramide constituée par ces éléments a une base de 12 m de long et 8 m de large pour une hauteur de 4 m environ.

Elle est aménagée de telle manière que les plongeurs puissent circuler entre chaque élément et à l'intérieur de ces derniers pour suivre la colonisation algale et faunistique.

A cet égard il est intéressant de noter que dès les premières semaines de sa construction ce nouveau récif, le plus important de notre Réserve, a été rapidement occupé par des bancs de poissons.

Il a été ainsi démontré que la récupération bien étudiée de certains matériaux pouvait aboutir à une action de protection du milieu marin.

Opération "Plages Propres" Été 1987

Comme elle le fait depuis deux ans, notre Association a renouvelé en 1987 sa contribution à la propreté des plages du Larvotto en mettant à la disposition des baigneurs des sacs poubelles à l'effigie "Respectez la mer".

Ces sacs montés sur des supports spéciaux mis en place par le Service de l'Urbanisme ont été remplacés quotidiennement par le personnel de la Société Monégasque d'Assainissement qui en a utilisé 2.800 du 15 juin à la fermeture des plages.

Nos visiteurs ont ainsi participé activement à la campagne "Plages propres" engagée par l'Association "Région Verte" et son Président M. Noël Perna sur le littoral des Alpes Maritimes et des Bouches du Rhône dans le cadre de l'année de l'environnement.

La qualité des eaux de baignade très sévèrement contrôlée par les spécialistes du Centre Scientifique de Monaco, la netteté des plages où très peu de déchets ont été observés au cours de l'été leur ont valu d'être classées "hors concours" à la suite de l'enquête effectuée du 26 juillet au 1^{er} août 1987 et citées comme "devant être prises en exemple".

Nos sacs poubelles ont également été distribués aux yachtmen par le Service de la Marine et la Police Maritime.



Nos mulets sont aussi gourmands que peu effrayés.

Photo : De Sazo Rapho



Jeune nacre (*Pinna nobilis*) née dans la Réserve sous-marine de Monaco avec son balisage. Photo : Professeur Naroto Vicente

Sortir de sa réserve... c'est le rôle du scientifique

Par Nardo Vicente
Professeur à la Faculté des Sciences et
Techniques de Saint-Jerôme - Directeur du
Centre d'Etude des Ressources Animales
Marines - 13397 Marseille Cédex 13.

Une Réserve marine de 50 h à Monaco pourquoi faire ? C'est la question qu'ont pu se poser quelques esprits chagrins lors de sa réalisation.

En effet, cela pouvait sembler une gageure que de mettre en place une Réserve naturelle marine au droit des plages du Larvotto.

C'était un pari un peu fou qu'avait relevé l'Association Monégaque pour la Protection de la Nature soutenue en cela par S.A.S. le Prince Rainier III de Monaco. Et bien, 12 ans après la création de la Réserve, on peut dire qu'elle a gagné son pari face au scepticisme de certains administratifs et autres scientifiques.

Grâce à sa tenacité, à sa persévérance, la Réserve marine de Monaco est aujourd'hui un des fleurons de la Méditerranée occidentale en matière de protection marine. Et c'est sans doute la seule véritable Réserve marine intégrale dans ce secteur de la Méditerranée. En effet, elle jouit d'une protection totale puisque toute activité est interdite, exceptée l'activité de recherche pour une meilleure gestion écologique.

Elle est ainsi parvenue à un équilibre tout à fait inattendu en un lieu qui s'était appauvri du fait de l'urbanisation et de rejets domestiques.

Il a suffi d'aider le milieu à se reconstituer, en y installant des structures favorables au repeuplement tels les récifs artificiels, pour qu'une faune et une flore diversifiées et riches s'y installent et occupent tout l'espace.

L'herbier de Posidonies très altéré en limite inférieure a trouvé un regain de vigueur et a recolonisé des surfaces appréciables.

De nombreuses espèces de poissons et en particulier les Sparidés (sars, daurades) ont trouvé là un refuge et une nourriture adaptée si bien qu'elles prolifèrent pour le plus grand bonheur des scientifiques qui les étudient et des baigneurs qui n'en reviennent pas de les voir si nombreux à proximité immédiate de la plage où ils peuvent les nourrir à loisir.

De nombreux chercheurs des Universités françaises (Marseille, Nice) et Italiennes (Gênes, Naples) trouvent là un terrain idéal d'expérimentation dans de très nombreux domaines (biologie, écologie, éthologie, écophysiologie).

Certaines espèces qui n'existaient plus dans la Réserve ont pu être implantées et se sont parfaitement adaptées.

Il en est ainsi de l'oursin comestible (*Paracentrotus lividus*) dont on peut suivre la croissance, la reproduction (Regis, Delmas, 1987). Cette espèce montre des facultés de dépollution fort appréciables lorsqu'elle est réimplantée dans une zone salubre.

Une autre espèce menacée du littoral méditerranéen et dont certaines populations sont encore relativement abondantes autour des îles (Lerins, îles d'Hyères, Corse, Archipel des Embiez) a trouvé là un lieu idéal convenant à son cycle biologique. Il s'agit du grand mollusque bivalve Eu-lamellibranche : *Pinna nobilis*, la grande nacre de Méditerranée.

Quelques individus de petite taille avaient été installés dans la Réserve en 1980 par Michel Hignette sous directeur de l'Aquarium du Musée Océanographique et sont toujours vivants. Ils ont grandi et leurs valves sont recouvertes par une épifaune et une épiflore très diversifiées et très riches (spongiaires, bryozoaires, algues calcaires, serpulidés, bivalves, etc...) qui tout en protégeant la coquille lui confèrent un aspect microcosmique et multicolore.

Avec sa richesse et sa diversité, la Réserve sous-marine de Monaco est un terrain expérimental exemplaire sur notre littoral, un exemple à suivre qui permet aux chercheurs de poursuivre des expériences en toute quiétude sans courir le risque de voir leurs installations détruites ou pillées comme c'est malheureusement le cas en d'autres parcs régionaux ou nationaux qui ne jouissent pas d'une protection et d'une surveillance aussi poussées.

C'est un exemple qui mérite cependant d'être suivi et il serait souhaitable que de nombreuses aires protégées du même type voient le jour sur tout le littoral méditerranéen aussi bien en bassin occidental qu'oriental.

Ces secteurs protégés permettent en effet à la flore et à la faune de se régénérer pour le plus grand bien des zones de pêche voisines qu'ils contribuent à alimenter et à conforter.

Tous les utilisateurs du milieu marin doivent être conscients de l'intérêt que présentent de telles réserves pour la sauvegarde de la Méditerranée.

Chacun, qu'il soit plaisancier, pêcheur, aménageur ou scientifique ne peut que tirer des bénéfices substantiels dans son domaine s'il consent à réserver quelques hectares par ci par là d'où toute activité prédatrice, polluante ou contraignante (digue, ports, usines, égouts) doit être exclue.

Si l'homme dans son intelligence souvent orientée vers des objectifs de spéculation ou de rentabilité économique peut comprendre cela, il aura tout à gagner en retrouvant au cours des premières années du 3ème millénaire une Méditerranée vivante et généreuse qui ne pourra que l'aider dans son développement économique et culturel.

Encore faut-il y mettre le prix et rendre à cette mer, berceau de notre civilisation un petit peu de ce qu'elle nous a donné avec tant de générosité depuis des millénaires.



Jeune nacre (*Pinna nobilis*) née dans la Réserve sous-marine de Monaco.
Photo : Denis Arnould

Incendies du mois de Juillet 1986 Opération de reboisement à La Turbie

Chacun de nous garde en mémoire la catastrophe écologique qui a si durement frappé notre région en cette fin de juillet 1986. Des centaines d'hectares et des dizaines de milliers d'arbres ont été détruits par l'incendie qui a ravagé plusieurs communes dont celles d'Eze et de la Turbie.

Les premiers moments de stupeur passés, de merveilleux élans de solidarité se sont développés pour apporter une aide aux populations sinistrées. Mais il fallait dès lors envisager aussi de reboiser rapidement pour éviter la dégradation des terres brûlées par les intempéries du prochain hiver.

Toutes les associations de protection de la nature de la région, les clubs service, les services publics s'organisèrent pour effacer du mieux possible le spectacle de désolation qu'offrait ce coin de notre belle Côte d'Azur.

Notre association, fidèle au programme de reboisement qu'elle réalise chaque année, engageait une opération de plantation sur un terrain mis à sa disposition par la Mairie de la Turbie, sur la Route de la Tête de Chien. La zone était préalablement débarassée de tous les arbres incendiés par les soins de l'entreprise Spada qui nous apportait également son généreux concours pour la préparation des trous à la pelle mécanique.

MECANIQUE NAVALE

J. PAEZ

CONCESSIONNAIRE

**YAMAHA HORS BORD
GENERATEURS
MOTOPOMPE**



PORT DE MONACO

9 QUAI ALBERT 1^{er} MONACO - TEL. 93.30.13.51

activer certains composés, malheureusement de plus en plus nombreux, en métabolites très toxiques qui peuvent avoir des effets mutagènes et/ou cancérogènes. C'est l'activation métabolique responsable de la toxification.

Le Laboratoire de Biotransformation et Cancérogénèse de la Faculté de Médecine de Nice étudie les facteurs de variations des systèmes de biotransformation chez les poissons marins. Les thèmes de recherches sont :

– **Facteurs de variations endogènes :**

Les variations physiologiques des enzymes P-450 dépendantes sont étudiées chez le rouget (*Mullus barbatus*) et les serrans (*Serranus scriba* et *Serranus cabrilla*). Les poissons sont capturés par le Service des Pêches du Musée Océanographique de Monaco.

– **Facteurs de variations exogènes :**

• **Etude expérimentale** chez le loup (*Dicentrarchus labrax*)

Ces poissons proviennent d'une entreprise d'aquaculture de Balaruc-les-Bains (Les Poissons du Soleil) et sont maintenus dans des cages sous-marines. Pour éviter une contamination entraînant des inductions enzymatiques non contrôlées, il est nécessaire de choisir des zones le moins polluées possible et bien connues.

Les zones de stabulation choisies se trouvent devant le Musée Océanographique et dans la Réserve sous-marine de Monaco à 25 mètres de profondeur. Les loups sont régulièrement prélevés dans les cages et sont transportés à la Faculté de Médecine de Nice, où certains facteurs de variations (régimes nutritionnels, benzopyrène) des enzymes de biotransformation sont étudiés.

• **Etude in situ** : Notre équipe a créé, avec 7 autres organismes de recherches, le G.I.C.B.E.M. (Groupe Interface Chimie Biologie Ecosystèmes Marins. Coordonnateur : Dr. Marc Lafaurie). La thématique de ce groupe pluridisciplinaire est l'étude des activités des systèmes de bioprotection (biotransformation et métallothionéines) directement dans l'environnement.

Dans un premier temps, l'étude se fait sur des zones choisies en fonction de leurs **pollutions connues** ce qui permet d'établir des corrélations entre les analyses chimiques des polluants à très faibles concentrations et les activités de détoxification **in situ**. Ce programme fait l'objet d'un contrat GICBEM/CEE.

Dans un deuxième temps, la simple mesure des activités de bioprotection, d'une induction éventuelle des enzymes de biotransformation ou des métallothionéines, doit permettre de déceler la présence de tel ou tel type de polluants et ainsi d'évaluer la santé d'un environnement.

Un projet est actuellement à l'étude avec le Professeur Nardo Vicente pour étudier des organismes cibles (poissons, mollusques, échinodermes, algues...) dans la réserve sous-marine de Monaco afin d'évaluer les niveaux d'activités des différents systèmes de bioprotection et de disposer ainsi d'une surveillance biologique (biomonitoring) de l'état de santé de la Réserve.

Organismes constitutifs du G.I.C.B.E.M.

- Institut Océanographique, Musée Océanographique de Monaco, Avenue Saint-Martin - MC 98000 Monaco.
- Istituto Fisiologia Generale, Corso Europa n° 26 - 16132 Genova - Italie.
- Université d'Aix-Marseille II, Faculté de Pharmacie, Laboratoire d'Hydrologie - 27 bd Jean Moulin - 13385 Marseille Cédex - France.
- U.A. CNRS 348, Groupe d'Océanographie Physico-Chimique, Laboratoire de Chimie Physique A. Université de Bordeaux I - 33405 Talence Cédex - France.
- Université de Bordeaux I, Département Alimentation et Nutrition, Laboratoire de Toxicologie Alimentaire - 33405 Talence Cédex - France.

- Université de Nice, Faculté de Médecine, Département Absorption Biotransformation Cancérogénèse, Avenue de Valombrose - 06034 Nice Cédex - France.
- Université de Nice, Faculté des Sciences, Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Comparée, Campus Valrose - 06034 Nice Cédex - France.
- U.A. CNRS 1182, Laboratoire d'Enzymologie Cellulaire et Moléculaire, Université Louis Pasteur, 28 rue Goethe - 67083 Strasbourg Cédex - France.



Récif artificiel (- 30 m.) - Mise en place d'un homard adulte (*Homarus gammarus*).

Photo : A.M.P.N.

Tentative de repeuplement en oursins comestibles de la Réserve sous-marine de Monaco : transfert massif de *Paracentrotus lividus* en provenance du Golfe de Marseille

Gilles Gras

C.E.R.A.M. Laboratoire de Zoologie Marine - Faculté des Sciences et Techniques de St Jérôme - 13397 Marseille Cédex 13

INTRODUCTION.

L'oursin comestible *Paracentrotus lividus* a toujours fait l'objet d'une pêche intensive. Certains textes antiques décrivent un véritable commerce de l'oursin sur les côtes méditerranéennes. Cette pêche s'est perpétuée et a vu ses techniques se perfectionner jusqu'à nos jours. En France, les quantités prélevées ont diminué d'année en année et l'état du stock est aujourd'hui critique. Dans certaines portions du littoral méditerranéen français, l'espèce a même disparu.

Parmi les causes de la raréfaction de cette ressource, l'exploitation par l'homme n'est pas négligeable car à la pêche professionnelle (300 tonnes par an environ), s'ajoute celle des innombrables plaisanciers qui récoltent aussi de très grandes quantités.

Toutefois, cette pression humaine n'est pas le seul facteur responsable du déclin des populations d'oursins ; en effet, durant les dix dernières années, une maladie a gravement affecté les oursins et a détruit par endroits jusqu'à 80% des stocks.

En outre, la pollution chronique dont souffre la Méditerranée, détériore le milieu naturel et déstabilise l'ensemble de l'écosystème marin.

La côte monégasque a été durement touchée et l'oursin comestible y a pratiquement disparu. Dans la Réserve sous-marine de Monaco, lieu de notre étude, on peut considérer que le point zéro, c'est à dire l'extinction totale de l'espèce, a été atteint.

Nous avons donc tenté - comme cela a été fait à Marseille - de transplanter un grand nombre d'oursins, afin de reconstituer le stock et de suivre sa dynamique.

MODE OPERATOIRE.

1. Site et méthode de prélèvement.

Nous avons choisi le site de Marseille-Veyre comme lieu de prélèvement car à 3 mètres, les densités de *P. lividus* observées étaient de 50-55 ind/m², et à 6 mètres de 30-35 ind/m², permettant ainsi une collecte facile et rapide.

La pêche a été réalisée en scaphandre autonome par des pêcheurs professionnels qui allient rapidité et dextérité. En effet, il est important de ne pas blesser les animaux prélevés. Au moyen d'un crochet à 3 branches appelé "grappe", les oursins ont été mis un à un dans un filet appelé "monaguettes" pouvant contenir jusqu'à 30 douzaines d'individus commercialisables, puis transvasés dans une cuve plastique plus pratique pour le transport, effectué en avril 1987.

2. Transfert à Monaco.

Quatre heures après la fin de la pêche, les oursins avaient été transportés à Monaco et avant de les immerger, ils ont été mesurés (2000 environ) afin de connaître la structure de la population et de pouvoir suivre, ultérieurement, la croissance dans ce nouveau site "d'accueil".

Nous disposons de 2 bateaux : "La Posidonie" qui a assuré le transport des bacs contenant les oursins sur les sites de rejet, et un zodiac pour la sécurité des plongeurs. Les *P. lividus* ont été rejetés dans 3 biotopes :

- 1 l'herbier de Posidonies, à 6 mètres ;
- 2 un éboulis fin, à 6 mètres ;
- 3 une des digues protégeant la plage du Larvotto entre 1 et 3 mètres.

RESULTATS ET DISCUSSION.

A. Jour du rejet.

1. Structure de la population.

Le diamètre d'environ 2000 individus a été mesuré et les données ont été reportées sur un histogramme de fréquences (Fig.1). Le diamètre moyen des individus prélevés était de 33mm et les tailles s'échelonnaient de 24 à 50 mm.

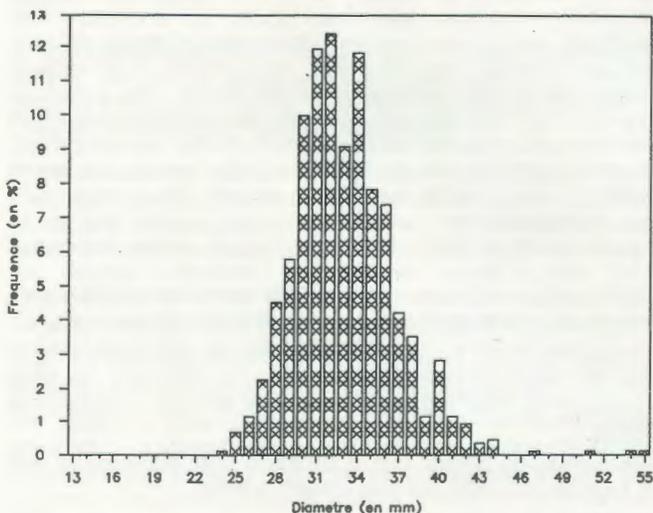


Fig. 1 : structure de la population totale.

Par la méthode des différences logarithmiques qui met en évidence les sous-populations gaussiennes d'une population, nous pouvons observer deux sous-populations dans les classes de taille 30 et 40 mm (Fig.2).

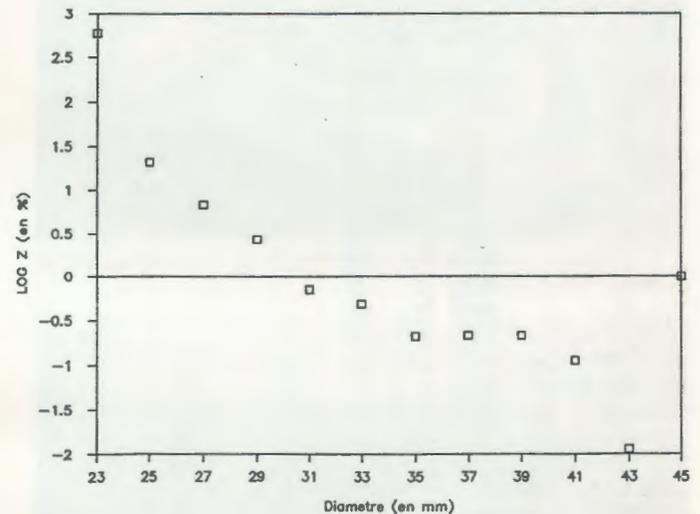


Fig. 2 : droites de Battacharya pour la population totale.

2. Rejet et observations.

Après le rejet des 6000 individus dans les sites choisis, nous avons immédiatement suivi, en plongée, leur comportement. Malgré le soin apporté lors du rejet, de nombreux oursins étaient soit éparpillés sur le substrat dans une position contraire à leur "norme physiologique", soit regroupés en amas d'une vingtaine d'individus.

5 minutes : Tous les individus ont déjà retrouvé leur position physiologique normale et ils agitent intensément leurs podias.

10-15 minutes : Apparition du comportement de couverture, phénomène habituel qui permet à *P. lividus* de recouvrir le pôle apical de son test d'algues et de débris divers ; l'activité des podias est toujours aussi intense.

20 minutes : Tous les *P. lividus* sont vivants et présentent une activité intense des podias.

30 minutes : Les *P. lividus* sont de plus en plus mobiles. On discerne deux types de comportements : les individus isolés s'enfouissent plus profondément dans la matre, tandis que les individus regroupés en amas se recouvrent de feuilles de posidonie.

40-70 minutes : On assiste toujours à la dispersion des oursins en amas, mais on n'observe pas plus d'émission de produits génitaux que de boulettes fécales.

24 heures : On peut déjà noter trois comportements bien différents suivant la nature du biotope où le rejet a été effectué :

- 1 les oursins rejetés sur la digue ou dans les éboulis ne sont plus visibles, ce qui dénote une activité intense.
- 2 dans la matre, ils sont très bien enfouis et n'offrent que très peu de prises aux prédateurs.
- 3 dans l'herbier, les oursins, toujours en amas, ne se sont pas encore dispersés mais ils commencent à brouter les feuilles de posidonie.

B. Etude de la population deux mois après le rejet.

1 Digue de la plage (1-3 m)

Nous avons observé très peu d'individus ; en effet, les gros blocs aménagent de profondes cavités rendant toutes observations et comptages impossibles. Il est donc difficile de conclure sur le choix de ce site.

2 Eboulis (6 m)

Les oursins observés sous les galets, recouverts de débris divers montraient un comportement normal. L'histogramme des classes de taille (fig.3) montre une structure irrégulière anormale, due à une très forte mortalité consécutive à la transplantation. Le diamètre moyen de cette population n'est plus que de 29 mm et les densités de l'ordre de 2 ind/m².

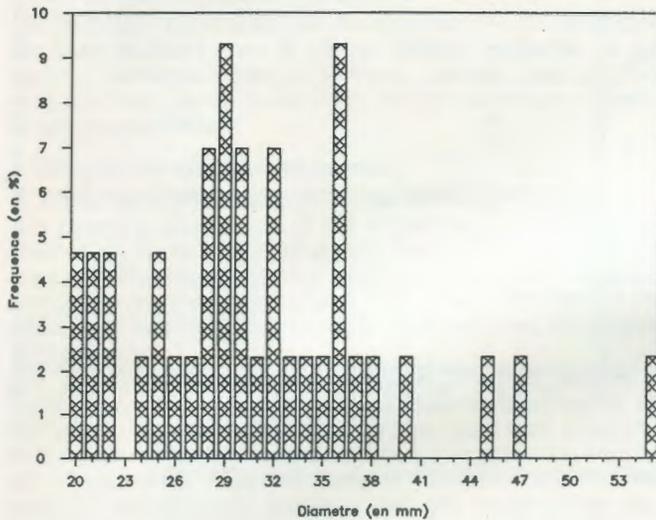


Fig. 3 : structure de la population de l'éboulis.

La méthode des droites de Battacharia met en évidence quatre sous populations dans les classes de taille 25, 29, 35 et 37 mm (fig.4).

De part et d'autre de l'éboulis, on a pu observer de nombreux individus isolés, ce qui dénote une certaine migration et une colonisation progressive de l'espace.

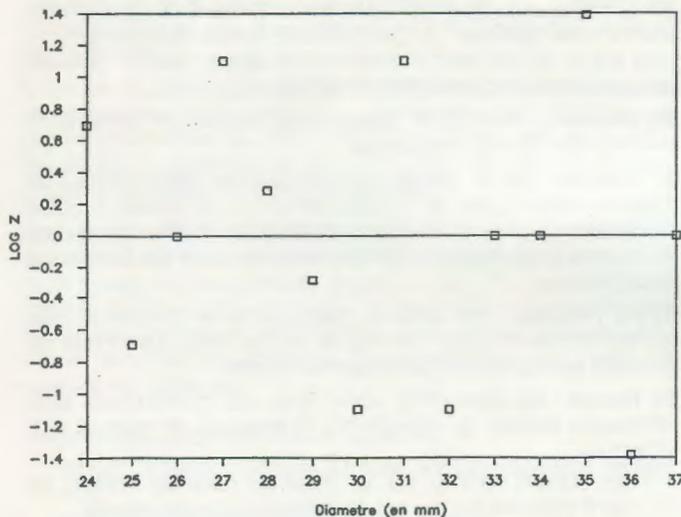


Fig. 4 : droites de Battacharya pour la population de l'éboulis.

3 Herbier (6 m)

Les densités observées sont de 1 ind/m² et le diamètre moyen de la population de 30 mm. Sur ce site également, on observe un déplacement des individus en direction du milieu environnant. Tous les individus dont le diamètre dépassait 45 mm sont morts (fig.5).

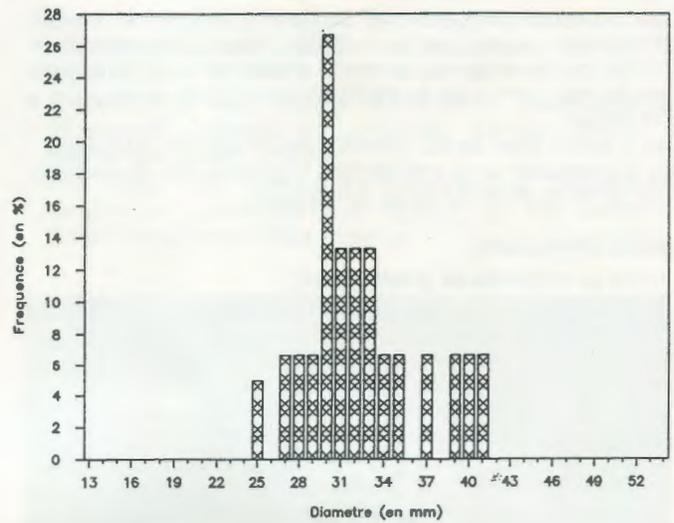


Fig. 5 : structure de la population de l'herbier.

La méthode des droites de Battacharia met en évidence quatre sous populations dans les classes de taille 27, 30, 34, 37 mm (fig.6).

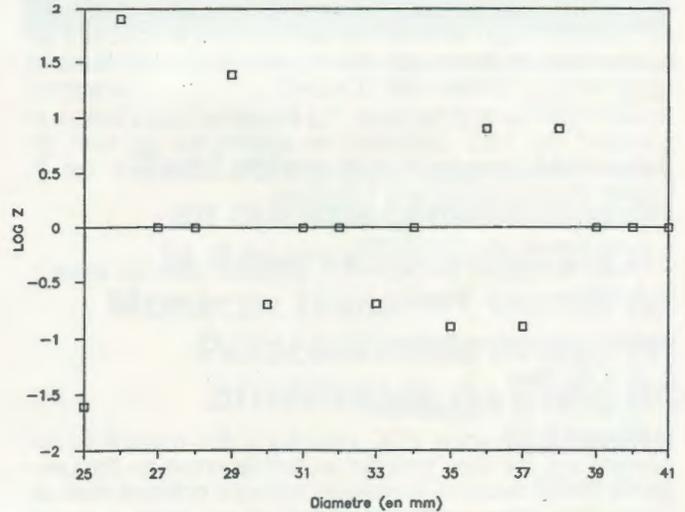


Fig. 6 : droites de Battacharya pour la population de l'herbier.

Si l'on compare le nombre d'oursins rejetés au nombre d'oursins retrouvés deux mois après, on enregistre une mortalité importante ; sur les 6000 individus rejetés en avril, on peut estimer que 35 à 40% sont morts. Il est difficile d'apprécier le pourcentage d'oursins morts des suites du transport de celui des oursins morts par prédation mais il est certain que ce dernier facteur a joué un rôle très important. En effet, dans les minutes qui ont suivi les rejets, nous avons assisté à une arrivée massive de prédateurs (girelles, sars) qui, immédiatement, se sont attaqués aux oursins et 24 heures après le rejet, nous avons trouvé de très nombreux tests complètement déchetés. Toutefois il semble que cette prédation spectaculaire se soit limitée à ces premières 24 heures, car le deuxième jour les poissons avaient disparu.

L'observation sur l'ensemble de la réserve sous-marine montre une dispersion progressive des oursins à partir des sites repeuplés et une occupation de plus en plus uniforme de l'espace.

Nous pouvons penser que la situation s'est stabilisée et que le taux de mortalité est maintenant normal.

CONCLUSION.

Deux mois après le rejet massif d'oursins dans la réserve de

Monaco, malgré une mortalité initiale très importante, il semble que les oursins se soient très bien adaptés à leur nouveau milieu, qu'ils colonisent progressivement. Nous pouvons espérer, dès le mois d'Août, une ponte de la plupart des individus de 30-35 mm et la fixation éventuelle des larves dès les premiers mois de l'automne. Nous pensons donc pouvoir noter la présence de nombreux juvéniles dont les tailles s'échelonnent autour de 5 à 10 mm dans le courant de l'hiver 87-88.

Cette étude préliminaire vise une action à plus long terme dans le but d'étudier le comportement des individus transplantés, leur dispersion dans le milieu et le repeuplement par l'arrivée de larves issues des géniteurs introduits dans la réserve.

ABSTRACT

C.E.R.A.M. : Marine Zoology Laboratory, St Jerome Faculty of Science and Technology, F. - 13397 Marseille Cedex, France.

It is certain that all species of edible sea-urchins, whose growth is slow, may totally disappear if their stocks are over-fished by professional or amateur fishermen. This is the case of the species Paracentrotus lividus of the Mediterranean coasts which is greatly esteemed by consumers, particularly in Provence. If it was the "bald sea-urchin disease" which not long ago decimated the coastal waters of the Côte d'Azur, in Provence it was rather anarchic over-fishing which was the reason for the fall from 1985 onwards in the number reaching the market.

The transfer of 6000 individuals edible sea-urchins of an average size of 33 mm from an area of the Marseille region considered "safe" but where fishing is forbidden to the Monaco Underwater Reserve has a dual purpose. First, to create a breeding-ground for the species by means of the planktonic larvae of this sea-urchin or even, in certain case, to create breeding-grounds further a field from their birth-place owing to their reaching the great westerly current which flows along the Mediterranean coast of France. Secondly, to calculate the mortality rate of the individuals transferred in this way (after 24 hours and after two months).

The individuals were deposited in three areas, the depths in metres of which are indicated in brackets.

1. The beach breakwater (1-3 metres). The individuals, once freed, quickly made for the labyrinth formed by the cavities in the breakwater where they found an ideal refuge against the majority of their predators; there they will be able to reproduce in peace and release their larvae at a suitable time.

2. The pile of small blocks (6 metres). The sea-urchins sought shelter, as far as possible, under the stones but some became victims of predators; others left the site to seek a more effective shelter against these latter.

3. The underwater plant bed (6 metres). The foliage, which is not very dense, provides little effective shelter against predators; here again a tendency of the sea-urchins to move to the surrounding uncovered territory was observed.

Finally, this experiment of transferring a rather large number of edible sea-urchins of the species Paracentrotus lividus showed that the almost immediate mortality rate of 35 to 40% of the total of the transferred population can be attributed to carnivorous fish which the divers were able to see attacking their defenceless prey. The individuals which escaped have spread rather uniformly throughout the Monaco Underwater Reserve; their density of population is in the order of 1 or 2 individuals per square metre, which is low but which may indicate prospects for the future given improvements in the conditions under which transport and resiting are carried out.



Embarquement des oursins comestibles (Paracentrotus lividus).
Photo : Eugène Debernardi



Comptage et mesurage des oursins avant l'embarquement pour la Réserve.
Photo : Eugène Debernardi

Dynamique des concentrations en métaux lourds dans les gonades et les contenus digestifs de Paracentrotus lividus (Lam.) provenant d'une zone soumise à une pollution à dominante domestique et transplantés dans la Réserve sous-marine de Monaco. Données préliminaires

Par Philippe Delmas, Centre d'Études des Ressources Animales Marines, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme, 13397 Marseille Cédex 13.

1 – INTRODUCTION.

Dans le domaine alimentaire, la commercialisation sans cesse croissante, de nombreuses espèces animales marines, incite les professionnels à rechercher des solutions susceptibles d'augmenter leur production. C'est la raison pour laquelle on développe de plus en plus l'aquaculture et les fermes marines. Dans le cas de l'oursin comestible Paracentrotus lividus (Lam.), l'aquaculture en est à ses débuts, et dans le



Cage à oursins - 2 spécimens en pleine... conversation.
Photo : Philippe Delmas

Quartier des Affaires Maritimes de Marseille, l'état du stock est si critique que pour assurer la prochaine saison de pêche (octobre 87-mars 88), les professionnels ont dû effectuer des opérations de repeuplement dans les zones autorisées à partir d'oursins prélevés dans la zone de Marseille-Courtiou, secteur interdit à la pêche, où, comme nous l'avons mis en évidence ces oursins présentent une densité moyenne de 50 ind.m⁻² (Delmas et Régis 1984, 1985). Cette zone étant soumise aux rejets de l'émissaire de l'agglomération marseillaise, les *P. lividus* sont utilisés comme géniteurs mais leur collecte pour la consommation n'est pas autorisée. En conséquence, nous avons pensé qu'il n'était pas négligeable de contrôler, si après stabulation, les oursins éliminent les métaux lourds accumulés dans leur organisme, en combien de temps, et dans quelles proportions. Pour mener cette expérience, il fallait rechercher une zone non polluée et protégée ; la Réserve sous-marine de Monaco s'est avérée être le site idéal et nous avons, en outre, bénéficié de l'appui et de la collaboration de l'Association Monégasque pour la Protection de la Nature.

2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES.

300 *P. lividus* ont été prélevés le 17 juin 1986 dans la zone de Marseille-Courtiou, au niveau de deux stations (1 et 2) situées respectivement à 1200 et 2800 mètres à l'ouest du débouché de l'égout. Les oursins ont été transférés dans la Réserve de Monaco et mis dans des cages sans fond, d'un volume de 14,5 m³, arrimées sur l'herbier de Posidonie à 10 mètres de profondeur. Les 150 oursins de la station 1, de diamètre moyen 26mm ($\pm 1,80$) ont été placés dans la cage 1, et ceux de la station 2 de diamètre moyen 42 mm ($\pm 2,33$) dans la cage 2. Pour chaque population d'échinoïde, 20 individus ont été prélevés pour établir le point 0 pour les analyses. Deux autres prélèvements de contrôle (20 individus pour chaque cage) ont été effectués le 8 juillet et le 6 novembre 1986. Des oursins prélevés à Port-Cros, zone de référence, ont servi de témoins.

Cinq métaux lourds ont été dosés dans les gonades et le contenu digestif des oursins ; le plomb, le cuivre, le cadmium, le nickel et le zinc. Les dosages ont été réalisés par spectrophotométrie d'absorption atomique après minéralisation des échantillons.

3 - RÉSULTATS.

Tableau 1 :

Dynamique de la concentration de cinq métaux lourds dans les gonades (G) et les contenus digestifs (CD) des *P. lividus* implantés dans la Réserve de Monaco en juin 1986, (mg/kg poids sec) et concentration de ces métaux chez les oursins de Port-Cros pris comme témoins.

		Implantation 17.06.86	Contrôle 08.07.86	Contrôle 06.11.86	Port-Cros 06.06.86
C	Pb G :	53,82	43,47	9,34	16,56
	CD :	60,04	66,25	14,01	24,84
A	Cu G :	38,37	31,79	10,41	1,09
	CD :	75,65	32,89	15,89	12,06
G	Cd G :	6,89	5,01	0,84	4,38
	CD :	6,80	5,64	2,11	4,89
E	Zn G :	128,13	89,87	124,59	93,50
	CD :	153,24	212,11	56,71	59,30
1	Ni G :	37,49	20,83	3,78	17,80
	CD :	41,66	39,58	23,99	24,99

		Implantation 17.06.86	Contrôle 08.07.86	Contrôle 06.11.86
C	Pb G :	24,84	22,27	3,11
	CD :	66,25	45,54	16,44
A	Cu G :	18,64	13,15	4,38
	CD :	66,25	45,54	9,34
G	Cd G :	5,64	4,64	1,69
	CD :	8,02	4,69	2,96
E	Zn G :	152,80	95,22	194,34
	CD :	146,74	170,55	68,15
2	Ni G :	20,83	27,08	5,05
	CD :	39,58	45,83	12,62

4 - DISCUSSION.

4.1. Concentrations en métaux lourds dans les gonades et les contenus digestifs des *P. lividus* lors de leur implantation.

4.1.1 CAGE 1. Le zinc est l'élément dominant, puis par ordre décroissant, viennent : le plomb, le cuivre, le nickel et bien loin derrière le cadmium (tab. 1). Si on établit une comparaison avec les témoins de Port-Cros, on constate que la différence la plus significative s'établit pour le cuivre : dans les gonades sa concentration est supérieure de 97% et dans les contenus digestifs de 58%. Le plomb vient ensuite avec des concentrations supérieures au témoin de 69% dans les gonades et de 58% dans les contenus digestifs. Pour le nickel, les concentrations sont à peu près le double de ce qu'elles sont à Port-Cros. Dans les gonades le zinc ne diffère du témoin que de 27%, par contre, dans les contenus digestifs il est supérieur de 61%. L'élément le moins concentré est le cadmium, (environ 7mg/Kg), de plus, ses concentrations sont plus proches du témoin (supérieures de 36,4% dans les gonades et de 28% dans les contenus digestifs) ; on sait cependant que la toxicité du cadmium est augmentée par la présence du cuivre et du zinc (Chabert 1980).

4.1.2. CAGE 2. On trouve encore comme éléments prédominants, le zinc ; il est suivi par ordre d'importance du plomb, du cuivre, du nickel et du cadmium. Dans les contenus digestifs les concentrations relevées sont assez analogues à celles trouvées pour les individus de la cage 1. Dans les gonades, elles sont inférieures d'environ 50% pour le cuivre, le plomb et le nickel et de 15% pour le cadmium. Pour le zinc la concentration dans les gonades est supérieure de 15%. Si l'on compare, à présent, les concentrations en métaux lourds obtenues pour les oursins de la cage 2 avec les valeurs témoins, on constate que la plus grande différence s'observe pour le cuivre avec une concentration supérieure de 94% dans les gonades et de 81% dans les contenus digestifs.

4.2. Dynamique des concentrations en métaux lourds dans les gonades et les contenus digestifs des oursins implantés à Monaco.

4.2.1. Après un mois de stabulation (tab. 1). Les concentrations des différents métaux ont légèrement diminué, notam-

ment dans les gonades ; seul le zinc présente une diminution marquée. Par contre, on observe parfois une augmentation de la concentration dans les contenus digestifs ; 9,3% pour le plomb et 27,75% pour le zinc chez les oursins de la cage 1 ; 13,96% pour le zinc et 13,63% pour le nickel chez les individus de la cage 2.

Le nickel augmente également de 23% dans les gonades. Dans l'état actuel de nos recherches, nous ne pouvons encore expliquer ce phénomène, mais nous poursuivons notre étude dans ce but.

4.2.2. Après six mois de stabulation. Les concentrations en métaux lourds pour tous les échantillons analysés, ont diminué d'environ 60 à 90%, elles deviennent inférieures à celles des témoins de Port-Cros, sauf pour le zinc et le cuivre. En effet, dans les gonades, le cuivre dépasse encore la concentration témoin de 89,5% (cage 1), et de 75% (cage 2) ; dans les contenus digestifs, les concentrations en cuivre ne diffèrent plus de celles du témoin que de 25% contre 80% initialement. Le zinc, par contre, présente une évolution particulière et similaire chez les *P.lividus* des deux cages. En effet, après un mois de stabulation, on a pu constater que la concentration de cet élément augmentait dans les contenus digestifs alors qu'elle diminuait dans les gonades ; six mois après, on observe le phénomène inverse. Cette dynamique de la concentration en zinc dans les gonades et dans le contenu digestif permet de supposer que cet élément pourrait intervenir dans le métabolisme du *P.lividus*.

CONCLUSION.

Ces résultats préliminaires montrent que des oursins présentant de fortes teneurs en métaux lourds peuvent – après stabulation dans une eau non polluée – donner des individus de bonne qualité pour une commercialisation éventuelle. Ces observations devront cependant être confirmées par de nouvelles expériences qui seront poursuivies dans les mêmes conditions dans la Réserve sous-marine de Monaco.

Dynamics of concentrations of heavy metals in the gonads and digestive contents of samples of *Paracentrotus lividus* (Lam.) collected from a zone subject to pollution predominantly domestic in character and relocated in the underwater reserve of Monaco.

Author : Delmas Philippe, CERAM, Saint-Jerôme
Faculty of Science and Technology - F-13397
Marseille Cédex 13, France

1 – INTRODUCTION.

In the food industry, the continually growing sales of many marine animal species encourages those working in this field to seek means of increasing their production. It is for this reason that aquaculture and marine farms are being increasingly developed. In the case of the common sea-urchin, *Paracentrotus lividus* Lam., aquaculture is in its early stages and in the area run by the Maritime Affairs Ministry in

Marseille, the state of the stock is so critical that in order to ensure the next fishing season (octobre 87 - March 88), the professionals have had to carry out restocking operations in the permitted zones with sea-urchins collected in the Marseille-Cortiou zone, an area where fishing is forbidden and where, as we have shown, these sea-urchins are present at an average density of 50 individuals per square metre (Delmas & Regis 1984, 1985). As this zone receives the spoil from the drains of the Marseille region, *Paracentrotus lividus* are used for breeding purposes but their collection for consumption is not permitted. As a result, we thought that it would be not without interest to check whether after relocation the sea-urchins eliminate the heavy metals which have accumulated in their organism, over what period of time and in what proportions. To carry out this experiment, it was necessary to seek a zone both unpolluted and protected ; the Underwater Reserve of Monaco proved to be the ideal site and we had, in addition, the advantage of the support and collaboration of the Monaco Association for the Protection of Nature.

2 – MATERIALS AND METHODS.

300 samples of *P.lividus* were collected on 17.06.86 in the Marseille-Cortiou zone from two stations (1 and 2) which are respectively located 1200 metres and 2800 metres to the west of the drain outlet. The sea-urchins were taken to the Monaco Reserve and put into cages without bottoms, 14,5 cubic metres in volume, located on the Posidonia plant-bed in 10 metres of water. One hundred and fifty sea-urchins from Station 1, of an average diameter of $26 \text{ mm} \pm 1.80$, were placed in Cage 1 and those of Station 2, of an average diameter of $42 \text{ mm} \pm 2.33$, were placed in Cage 2. From each echinoidea population, 20 individuals were selected in order to establish the datum point for the analyses. Two other control samples (20 individuals from each cage) were taken on 8.7.86 and 6.11.86. The sea-urchins collected at Port-Cros, the reference zone, were used as controls.

Five heavy metals were measured in the gonads and digestive contents of the sea-urchins : lead, copper, cadmium, nickel and zinc. The measurements were made by atomic absorption spectrophotometry after mineralization of the samples.

3 – RESULTS.

Table I. Dynamics of the concentration of 5 heavy metals in the gonads (G.) and digestive contents (DC) of the *P.lividus* placed in the Monaco reserve in June 1986 (mg/kg dry weight) and the concentration of these metals in the sea-urchins from Port-Cros taken as controls.

		Relocation 17.06.86	Check 08.07.86	Check 06.11.86	Port-Cros 06.06.86
C	Pb G :	53.82	43.47	9.34	16.56
	DC :	60.04	66.25	14.01	24.84
A	Cu G :	38.37	31.79	10.41	1.09
	DC :	75.65	32.89	15.89	12.06
G	Cd G :	6.89	5.01	0.84	4.38
	DC :	6.80	5.64	2.11	4.89
E	Zn G :	128.13	89.87	124.59	93.50
	DC :	153.24	212.11	56.71	59.30
1	Ni G :	37.49	20.83	3.78	17.80
	DC :	41.66	39.58	23.99	24.99

		Relocation 17.06.86	Check 08.07.86	Check 06.11.86
C	Pb G :	24.84	22.27	3.11
	DC :	66.25	45.54	16.44
A	Cu G :	18.64	13.15	4.38
	DC :	66.25	45.54	9.34
G	Cd G :	5.64	4.64	1.69
	DC :	8.02	4.69	2.96
E	Zn G :	152.80	95.22	194.34
	DC :	146.74	170.55	68.15
2	Ni G :	20.83	27.08	5.05
	DC :	39.58	45.83	12.62

4 – DISCUSSION.

4.1. Concentrations of heavy metals in the gonads and digestive content of *P. lividus* at the time of their relocation.

4.1.1. CAGE 1. Zinc is the dominant element, then in decreasing order come lead, copper, nickel and, very far behind, cadmium (See Table 1). If a comparison is made with the control samples from Port-Cros, it is seen that the most important difference is that relating to copper; in the gonads its concentration is higher by 97% and in the digestive contents 58%. In second place comes lead which has concentrations 69% higher than the controls in the gonads and 58% higher in the digestive contents. For nickel, concentrations are approximately double the figure for those of Port-Cros. In the gonads zinc only differs from the control by 27% but, on the other hand, in the digestive contents it is higher by 61%. The least concentrated element is cadmium (about 7mg per kilogram); moreover, its concentrations are nearest to the control (greater than 36.4% in the gonads and 28% in the digestive content); it is known, however, that the toxicity of cadmium is increased by the presence of copper and zinc (Chabert 1980).

4.1.2. CAGE 2. Zinc is still the predominant element; it is followed in order of importance by lead, copper, nickel and cadmium. In the digestive contents the concentrations recorded are somewhat analogous to those recorded for the individuals of Cage 1. In the gonads, they are lower by about 50% for copper, lead and nickel and by 15% for cadmium. For zinc the concentration in the gonads is greater by 15%. If a comparison is made, at present, between the concentrations of heavy metals obtained for the sea-urchins in Cage 2 and the control values, it will be seen that the greatest difference is observed for copper with a concentration greater by 94% in the gonads and 81% in the digestive contents.

4.2. Dynamics of the concentrations of heavy metals in the gonads and the digestive contents of the sea-urchins moved to Monaco.

4.2.1. One month after relocation (table 1). The concentrations of the different metals have slightly decreased, particularly in the gonads; only zinc shows a marked reduction. On the other hand, sometimes an increase may be noted in the concentrations in the digestive contents: 9.3% for lead and 27.75% for zinc in the sea-urchins in Cage 1; 13.96% for zinc and 13.63% for nickel in the individuals from Cage 2. Nickel also increased by 23% in the gonads. At the present stage of our enquiry, we cannot yet explain this phenomenon but we are pursuing our researches to this end.

4.2.2. Six month after relocation. The concentrations of heavy metals for all the samples analyzed have decreased by between 60% and 90% approximately and have become lower than those of the controls from Port-Cros, except for zinc and copper. In fact, in the gonads, copper is still higher than in the control concentration by 89.5% (Cage 1) and by 75% Cage 2; in the digestive contents, the concentrations of

copper differ from these of the controls by only 25% against 80% at the beginning. Zinc, on the other hand, develops in a particular way which is similar in *P. lividus* in both cages. In fact, a month after relocation, it can be seen that the concentration of this element increased in the digestive contents while it decreased in the gonads; six months later, the opposite effect was noticed. These dynamics of the concentration of zinc in the gonads and the digestive contents give rise to the supposition that this element might play some role in the metabolism of *P. lividus*.

CONCLUSION.

These preliminary findings show that sea-urchins having high heavy metal contents, may, after relocation in unpolluted water, provide individuals of good quality for possible sale. These observations must, however, be confirmed by other experiments which will be carried out in the same conditions in the Monaco Reserve.

BIBLIOGRAPHIE.

- CHABERT D. (1980). «Pollution d'un milieu lagunaire par les métaux lourds et les composés organochlorés» (Pollution of a lagoon site by heavy metals and organo-chlorine compounds). *Vie Marine, hors série, n° 20*, p. 6.
- DELMAS Ph. et RÉGIS M.B. (1984). «Influence d'une pollution complexe à dominante domestique sur les populations de l'échinoïde comestible *Paracentrotus lividus* (Lmck). (Influence of complex, basically domestic, pollution on populations of the common sea-urchin *Paracentrotus lividus* Lam.) *Vie Marine* 6, pp. 63 à 72.
- DELMAS Ph. et RÉGIS M.B. (1985). «Impact de la pollution domestique sur la biologie et la morphométrie de l'échinoïde *Paracentrotus lividus*. Données préliminaires» (Effect of domestic pollution on the biology and morphometry of the sea-urchin *Paracentrotus lividus*. Preliminary findings). *C.R. Acad. Sc. Paris, t. 300, série III, n° 4*, pp. 143 à 146.



Oursins comestibles (*Paracentrotus lividus*).
Regroupement dans l'herbier de Posidonies après largage.
Photo : Philippe Delmas

La fécondation chez les invertébrés marins : modèle biologique universel

Denis Allemand, Guy de Renzis
Patrick Payan - Jean-Pierre Girard

Docteur Denis Allemand - Centre Scientifique de Monaco - 16 bd de Suisse - Monte-Carlo, Principauté de Monaco - Membre du Conseil d'Administration de l'A.M.P.N.

Docteur Guy de Renzis, Professeurs Patrick Payan et Jean-Pierre Girard - Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Comparée - Université de Nice - U.A. CNRS 651 - Parc Valrose - 06034 Nice Cédex.

Le rôle de l'Association Monégasque pour la Protection de la Nature est de participer à la protection du milieu régional, mais aussi de privilégier les recherches dans le domaine de la biologie marine. Ces recherches peuvent être une analyse descriptive d'un écosystème, mais peuvent aussi appartenir au domaine de la biologie expérimentale. L'article qui suit présente brièvement les aspects de ce type de recherche. Ce domaine étant très vaste, nous présenterons ici plus particulièrement les recherches conduites par les 4 équipes régionales intéressées plus particulièrement par la biologie cellulaire marine et qui utilisent comme matériel biologique les œufs d'échinodermes (oursins, étoiles de mer...). Ces unités sont respectivement l'Unité INSERM "Mer et Santé" et l'Unité CNRS "Biologie du Développement" à Villefranche sur Mer, le Laboratoire de Physiologie Cellulaire de l'Université de Nice et le Centre Scientifique de Monaco.

1 - Introduction

La conservation de structures et de mécanismes fondamentaux communs à toutes les espèces est un des postulats de base de la biologie expérimentale. Cette science s'exprime à travers l'étude de "modèles biologiques" dont le choix judicieux facilite l'approche des questions posées. Ainsi la biologie moderne est née de l'étude d'organismes tels que le maïs, la levure, la drosophile ou la souris.

Le milieu marin représente un important vivier de modèles expérimentaux exceptionnels, et parmi ceux-ci, la fécondation ou rencontre des gamètes (œufs et spermatozoïdes) d'invertébrés marins bénéficie depuis quelques décennies d'une attention toute particulière de la part de chercheurs appartenant à des disciplines aussi variées que l'embryologie, la biochimie, l'écophysiologie... Il a en effet été montré que les étapes de la fécondation sont dans leurs grandes lignes identiques chez les invertébrés et les vertébrés (l'homme y compris) chez lesquels l'étude de ce phénomène est très difficile. Il est par ailleurs important de remarquer que les mécanismes d'activation d'un ovule par un spermatozoïde sont comparables à ceux observés dans d'autres types d'activation cellulaire par les hormones par exemple, mais aussi par les gènes du cancer ou oncogènes récemment mis en évidence. Enfin, et plus généralement, la cellule fécondée est un modèle idéal de biologie cellulaire pour des études de pharmacologie ou de toxicologie, plus facile à mettre en œuvre que des cultures de cellules.

2 - Les gamètes d'invertébrés en tant que modèle d'étude de la fécondation et de la stimulation cellulaire.

Des êtres multicellulaires comme les animaux supérieurs sont composés de plusieurs dizaines de milliards de cellules qui doivent fonctionner de façon solidaire pour coordonner leurs diverses activités, contrôler leur croissance et leur multiplication... Pour ce faire, elles doivent recevoir à tout instant des informations de l'ensemble de l'organisme qu'elles constituent, mais aussi des informations relatives aux conditions extérieures à celui-ci.

Très tôt dans l'évolution, sont apparus chez les êtres vivants deux systèmes relationnels : le système endocrinien qui met en communication les cellules entre elles et le système nerveux qui établit principalement les relations avec le milieu environnant. Ces systèmes font appel à des messages moléculaires (hormones, facteurs de croissance, neurotransmetteurs...), cellulaires (spermatozoïdes...) ou encore physiques tels que la lumière ou la pression. Ces messagers agissent sur une cellule cible capable de les reconnaître grâce à un récepteur spécifique fixé dans la membrane qui entoure la cellule. Mais la transmission du message n'est pas finie pour autant : en effet, le récepteur va traduire le message reçu au niveau de la membrane en langage compréhensible par la cellule. Globalement, les réponses cellulaires sont de deux types : apparition de petites molécules appelées messagers secondaires (AMPc, GMPc, Ca⁺⁺) et ouverture de canaux membranaires qui vont laisser passer de façon très spécifique certains ions (atomes porteurs de charges électriques).



Stade "blastula" - Ce stade résultant de nombreuses divisions de l'œuf est obtenu après environ 24 heures. (diamètre : 0,07 mm).

Photo : J. Cosson

Ces différents événements intracellulaires vont modifier le métabolisme de la cellule et ainsi déclencher une réponse spécifique du récepteur stimulé initialement.

C'est avec l'étude de la fécondation de l'œuf d'oursin qu'ont été obtenus il y a une dizaine d'années les résultats les plus clairs à ce sujet. Depuis, des travaux concernant l'action d'hormones ou de facteurs de croissance sur des cellules somatiques en culture ont montré des similitudes étonnantes avec les cellules sexuelles d'invertébrés. Ceci représente un exemple fascinant de l'unicité de la réponse cellulaire quelque soit le type de cellule étudiée à des stimuli extrêmement divers.

Les retombées de ces recherches, outre une meilleure connaissance de ces phénomènes, sont multiples, et concernent en particulier les domaines de la reproduction : amélioration des conditions d'insémination artificielle chez les vertébrés, meilleure conservation des spermatozoïdes, traitement de certaines stérilités dues à une faible mobilité des spermatozoïdes,... mais aussi les domaines de l'endocrinologie, de la neurophysiologie ou de l'immunologie.

3 - Les gamètes d'invertébrés en tant que modèle d'étude en biologie du développement et en cancérologie.

L'ensemble des cellules constitutives d'un organisme résultent d'une cellule unique appelée œuf, obtenue par la fusion d'un spermatozoïde et d'un ovule. Entre cette cellule unique et l'être humain, de très nombreuses divisions sont nécessaires mais aussi une différenciation des cellules pour former chacun des organes, ainsi qu'un arrangement spatial particulier, spécifique à chaque espèce, pour ordonner les organes entre eux afin de former le corps. Les problèmes de la régulation des divisions cellulaires et de la différenciation sont à l'heure actuelle l'un des domaines de la biologie les plus étudiés car l'enjeu de la compréhension de ces phénomènes qui mobilise de très nombreux chercheurs du monde entier est de taille, puisque les retombées pratiques font partie de l'arsenal des moyens de guérison des cancers.

Un cancer résulte toujours de la division anarchique de cellules qui ont perdu la capacité d'être contrôlées par les signaux physiologiques normaux : le cancer est une maladie du contrôle de la division et de la différenciation cellulaire. Paradoxalement, les biologistes ont été depuis longtemps frappés par une troublante analogie entre le développement normal de l'embryon et l'évolution maligne des différentes formes de cancer. Il vient d'être montré, chez l'œuf de grenouille, que les gènes responsables de la formation des cancers (ou oncogènes) correspondent à des gènes naturellement exprimés au cours des premières étapes de la vie. Ainsi, l'apparition d'un cancer signifierait la remise en route de mécanismes normalement exprimés chez le fœtus. Comprendre les bases cellulaires et moléculaires des cancers revient donc à comprendre les mécanismes intimes de la division cellulaire et à identifier les points où, dans la cellule cancéreuse, ces mécanismes sont devenus anormaux.

Ce que nous venons de décrire explique que dans les laboratoires de recherche l'œuf d'oursin côtoie les cellules cancéreuses en culture. Cet œuf représente là encore un modèle d'étude idéal, puisque ses divisions sont rapides (toutes les heures) alors que les cellules somatiques de mammifères ne se divisent que toutes les 24 h. en moyenne. De plus, nous possédons un éventail de substances susceptibles d'induire des différenciations cellulaires anormales conduisant à des erreurs de développement (larves à tube digestif hypertrophié ou atrophié).

4 – Les gamètes d'invertébrés en tant que modèle en biologie cellulaire : étude de toxicologie et de pharmacologie.

La toxicité d'une substance peut revêtir deux aspects : une toxicité aiguë, qui aboutit à la mort après une seule absorption (par exemple l'inhalation d'oxyde de carbone ou l'absorption de cyanure même à faible dose), et une toxicité à long terme (ou subléthale) qui concerne les effets toxiques produits par l'exposition prolongée à une substance dont la répétition d'effets cumulatifs fini par provoquer des troubles insidieux, même si la substance n'était présente qu'à des doses parfois infimes. Dans le domaine de la pollution marine, ce sont généralement à des effets à long terme que l'on est confronté puisque les concentrations de substances toxiques sont faibles, sauf dans certaines zones très polluées (zones portuaires en particulier) ou lors d'accident (Minamata, Amoco Cadiz...). Les animaux adultes sont relativement peu sensibles aux faibles doses de ces substances. Ils possèdent des systèmes de détoxification (foie, rein) ou de stockage qui leur évitent d'en subir les effets. Cependant, dans le même temps, ces animaux arrivent à concentrer ces substances plusieurs milliers de fois et ce sont alors les animaux arrivant en fin de chaîne alimentaire (c.a.d. principalement l'homme) qui subissent le plus de dommages. Les cellules isolées comme les ovules, les spermatozoïdes ou l'œuf sont directement exposées aux substances toxiques, et présentent ainsi une sensibilité plusieurs centaines de fois supérieure à celle de l'adulte. Or, en milieu marin, les mammifères (baleines et dauphins) mis à part, la fécondation est externe : ovules et spermatozoïdes sont libérés dans la mer et leur rencontre s'effectue en pleine eau, souvent de façon aléatoire. L'effet des polluants et des substances toxiques doit donc être principalement étudié sur la fécondation et la croissance de la larve, étapes les plus sensibles de la vie de l'animal.

Nos résultats préliminaires suggèrent que la toxicité des métaux lourds transite par la perturbation de l'homéostasie calcique intracellulaire. Ce résultat est à rapprocher d'hypothèses récemment émises proposant que la mort cellulaire aussi bien dans des cas normaux (vieillesse ou mue) que pathologique (attaque virale ou chimique) correspondait à une élévation anormale du calcium cellulaire.

L'étude des effets mutagènes ou tératogènes des métaux lourds sur les larves d'oursin peut permettre d'autre part de comprendre les mécanismes de la différenciation cellulaire. En effet, ces métaux lourds provoquent la synthèse de certaines protéines (les métallothionéines) qui normalement participent aux processus de détoxification cellulaire des métaux, mais qui semblent aussi jouer un rôle dans le contrôle de la prolifération cellulaire puisque ces protéines sont retrouvées dans les cellules à fort taux de division (cellules larvaires, cellules cancéreuses).

On le voit, les gamètes d'oursins peuvent permettre d'avancer dans la compréhension des mécanismes d'action des substances toxiques en général (toxicologie) et des produits polluants en particulier (écotoxicologie). A côté d'un aspect fondamental (modèle pour des tests prédictifs de toxicité), ces recherches peuvent avoir des retombées économiques régionales en permettant de prévenir les effets toxiques subléthaux au niveau de la fécondation des organismes marins comestibles (oursins, mollusques divers, poissons).

Enfin, l'utilisation des gamètes d'oursins ne se limite pas aux

études toxicologiques, mais intéresse aussi d'une part tous les domaines de la biologie cellulaire (études de la régulation du métabolisme cellulaire, de la régulation de l'activité des gènes...) et d'autre part les études pharmacologiques. Dans ce dernier domaine, la conception rationnelle de médicaments innovants peut s'envisager par la recherche et la purification de nouvelles substances actives et par l'étude de leurs effets sur des modèles biologiques appropriés. Bien que l'on sache depuis longtemps que de nombreux composés actifs sont contenus dans la flore et dans la faune sous-marine qui représentent, si l'on excepte les insectes, les 3/4 des espèces vivantes répertoriées à ce jour, ce n'est que récemment qu'à été entreprise l'analyse systématique de ces composés. De nombreuses toxines d'origine marine ont déjà été isolées et étudiées à partir d'algues, d'éponges, d'anémones de mer, d'échinodermes (holothuries, étoiles de mer, oursins), de poissons...

Dans le cadre de l'étude et de la mise au point de nouveaux médicaments, les œufs d'échinodermes s'avèrent être encore un matériel de choix, en particulier pour l'étude des drogues antimitotiques (donc anticancéreuses), antibiotiques, ou de toxines diverses (cardiotoxines, neurotoxines...) agissant au niveau des protéines membranaires assurant le transport des ions.

Ainsi simultanément la mer représente une source potentiellement inestimable de molécules naturelles et procure les moyens de les étudier, en fournissant des modèles cellulaires incomparables.

5 – Rôle de la réserve sous-marine de Monaco dans ces recherches.

Dans le cadre de notre recherche, la présence sur le littoral monégasque de la réserve sous-marine présente de nombreux avantages concrets :

- Cette réserve constitue un laboratoire dans lequel il est possible d'effectuer des observations en milieu protégé. Elle constitue d'autre part une source privilégiée d'animaux d'expérience (oursins, étoiles de mer) provenant d'un biotope dont les caractéristiques physico-chimiques sont contrôlées et suivies en continu.
- Une telle zone offre la possibilité de maintenir et de faire procéder à la reproduction et au développement de certaines espèces dans des conteneurs sous-marins (cages, filets), fournissant ainsi les échantillons nécessaires au suivi de paramètres biologiques, physiologiques et écotoxicologiques au cours de la croissance et de la vie des animaux.
- La présence d'une équipe technique (plongeurs en particulier) permet la surveillance des espèces choisies pour l'expérimentation, ainsi que la protection de celles-ci puisque l'oursin est actuellement une espèce en voie de disparition.

En effet, la quantité d'oursins pêchés en France s'est trouvée considérablement réduite durant ces dernières années puisqu'elle est officiellement passée de 1150 tonnes en 1945, à 500 tonnes en 1982, malgré une demande fortement accrue. La quantité d'oursins pêchés sur les côtes varoises a quant à elle diminué de 75% ces dix dernières années reflétant une diminution identique des stocks. Ce net déclin des populations d'oursins est la conséquence d'un prélèvement excessif et d'une maladie qui s'est développée récemment et qui se caractérise par l'apparition de tâches vertes sur l'oursin, puis par la perte des piquants (d'où le nom : maladie de "l'oursin chauve") qui aboutit à la mort de l'individu. Cet état de fait révèle l'urgence de la mise en place d'un programme qui revêtirait l'aspect d'un plan de sauvetage de l'espèce sur la côte méditerranéenne. Un tel programme comporte nécessairement deux volets : d'une part, l'étude et la lutte contre la maladie de "l'oursin chauve" et d'autre part, la mise au point d'unités de reproduction artificielle conduisant au repeuplement des côtes. Dans ce cas, le rôle de la réserve sous-marine de Monaco se révélerait

comme prépondérant en tant que réservoir naturel pour une reproduction contrôlée et suivie des oursins en vue d'un essaimage vers le milieu côtier méditerranéen.

En conclusion, la réserve sous-marine constitue le prolongement naturel et indispensable d'une recherche écotoxicologique qui tend à déboucher vers une meilleure connaissance de certaines espèces et leur protection dans l'écosystème méditerranéen. De plus, il ressort que parallèlement, des objectifs de nature économique peuvent être poursuivis qui conduiraient à l'expérimentation puis au développement de l'aquaculture de l'oursin, tout comme il en existe pour les lousps ou les daurades, et qui s'inscrirait dans le cadre plus large de l'extension de cette technique sur le pourtour du bassin méditerranéen.

Remerciements :

Les auteurs remercient M^{me} C. Cellario et les Docteurs J. Cosson et C. Sardet de la Station Marine de Villefranche ainsi que le Docteur C. Ungar et le Docteur A. Bilbaut de la Faculté des Sciences de Nice pour leurs commentaires.

Fertilization of marine invertebrate eggs : for studying cell biology

**Denis Allemand, Guy de Renzis
Patrick Payan - Jean-Pierre Girard**

Author : Docteur Denis Allemand - Centre Scientifique de Monaco - 16, bd de Suisse - Monte-Carlo - Principauté de Monaco

Docteur Guy de Renzis, Professors Patrick Payan and Jean-Pierre Girard - Cellular Physiology Laboratory - University of Nice - U.A. CNRS 651, Parc Valrose - 06034 Nice Cédex - France

This paper presents recent aspects of marine biology as studied in four regional laboratories which use echinoderm eggs (sea urchin, starfish...) as biological materials. These laboratories are : the Centre Scientifique de Monaco, the INSERM "Mer et Santé" Unit and the CNRS "Biologie du Développement" Unit at Villefranche-sur-Mer and the Cellular Physiology Laboratory at the University of Nice.

1 - Introduction

The preservation of fundamental structural mechanisms common to all species from virus to man is one of the basic tenets of experimental biology. "Biological models" can thus be more readily used for studying certain aspects of biology or biochemistry.

Marine species constitute a very important reserve for experimental models for cell biology. During the last two decades, marine invertebrate fertilization has focused the attention of many researchers in disciplines as varied as embryology, biochemistry, environmental physiology, cell biology... Indeed, the biochemical events following fertilization of the eggs of marine invertebrate such as the sea urchin, the most studied species, are remarkably similar to those occurring in vertebrates eggs (including man) which are much more difficult to study. Furthermore, the mechanism of egg activation by sperm is comparable to other types of cell activation by such agents as hormones, growth factors and also oncogenes, the genes of cancer recently discovered. More generally, fertilized eggs provide a model for pharmacological and toxicological studies, easier to use than cell cultures.

2 - Invertebrate gametes, a model of fertilization and cell activation.

The evolution of multicellular organisms, which are formed of thousands of millions of cells, has depended on their ability to communicate with all the other cells. Communication between cells is required to regulate their development, control their growth and coordinate their various activities. Cells receive information via the endocrine and nervous systems from other cells, and via the nervous system from the environment of the organism.

The signalling messenger may be chemical (hormones, growth factors, neurotransmitters...), cellular (sperm...) or physical (light, pressure...). The signalling messenger is recognized by the target cell thanks to a specific protein, called a receptor, located in the cell membrane. This extracellular event is later converted into an intracellular signal in one of the ways : the generation of small intracellular molecules, called second messengers, like AMPc, GMPc or Ca⁺⁺, or the opening of membrane-bound ionic channels resulting in an influx of ions into the cytosol. This intracellular signal alters the behavior of the target cell in specific ways.

Much of what we know about these cell transduction and activation mechanisms has been learned from sea urchin egg fertilization studies. This is why endocrinologists, neurophysiologists, immunologists are interested in this event.

3 - Invertebrate gametes, a model for developmental biology and cancerology.

All the cells of multicellular animals descend from a single original cell resulting of the fusion of an egg and a sperm. After the fertilized egg has cleaved many times, the embryo cells undergo differentiation and spatial pattern formation. The control mechanism of these events has focused the attention of many laboratories throughout the world, but they remain poorly understood.

In a healthy organism, cell growth and differentiation are very carefully regulated processes. The loss of control regulating cell multiplication produce cancer. A very striking observation is that cancer cells are very close in their properties to the developing embryo. The oncogenes, the genes involved in cancer development are related to normal genes activated during cell growth. The fertilized sea urchin eggs which divide very rapidly (about 1 h. whereas cultured somatic cells only divide every 24 h.) is thus a very good model for understanding the control mechanism of cell division, especially since we can modify the development of larvae with chemicals. This is how sea urchins are used in medical research.

4 - Invertebrate gametes, a model for toxicology and pharmacology.

Depending on their concentration in the sea, pollutants may have short-term acute toxicity or a long term chronic biological effect. In fact, the essential problem facing the marine toxicologist is long term exposure to sublethal doses, whose accumulation can lead to insidious effects, one of the first being an alteration in cell calcium homeostasis, as in aging cells.

An adult organism possesses numerous systems contributing to the detoxification of pollutants. Unfortunately, the gametes, which, for most marine species, are dispersed in the sea, are thus directly exposed to chemical pollutants. Therefore, they are at the most sensitive stage in their life. Thus, success of fertilization represents a crucial turning point in the survival of a species, and should be studied in priority.

Thus, the sea urchin eggs is, once again, an excellent tool for elucidating mechanisms of action of a toxic substance or a pollutant. Pharmacological studies proceed similarly. For studying a new chemical for the purpose of creating a new drug, the pharmacologist needs a biological model : the sea urchin eggs is revealed again as a fascinating model for

comme prépondérant en tant que réservoir naturel pour une reproduction contrôlée et suivie des oursins en vue d'un essaimage vers le milieu côtier méditerranéen.

En conclusion, la réserve sous-marine constitue le prolongement naturel et indispensable d'une recherche écotoxicologique qui tend à déboucher vers une meilleure connaissance de certaines espèces et leur protection dans l'écosystème méditerranéen. De plus, il ressort que parallèlement, des objectifs de nature économique peuvent être poursuivis qui conduiraient à l'expérimentation puis au développement de l'aquaculture de l'oursin, tout comme il en existe pour les lousps ou les daurades, et qui s'inscrirait dans le cadre plus large de l'extension de cette technique sur le pourtour du bassin méditerranéen.

Remerciements :

Les auteurs remercient M^{me} C. Cellario et les Docteurs J. Cosson et C. Sardet de la Station Marine de Villefranche ainsi que le Docteur C. Ungar et le Docteur A. Bilbaut de la Faculté des Sciences de Nice pour leurs commentaires.

Fertilization of marine invertebrate eggs : for studying cell biology

**Denis Allemand, Guy de Renzis
Patrick Payan - Jean-Pierre Girard**

Author : Docteur Denis Allemand - Centre Scientifique de Monaco - 16, bd de Suisse - Monte-Carlo - Principauté de Monaco

Docteur Guy de Renzis, Professors Patrick Payan and Jean-Pierre Girard - Cellular Physiology Laboratory - University of Nice - U.A. CNRS 651, Parc Valrose - 06034 Nice Cédex - France

This paper presents recent aspects of marine biology as studied in four regional laboratories which use echinoderm eggs (sea urchin, starfish...) as biological materials. These laboratories are : the Centre Scientifique de Monaco, the INSERM "Mer et Santé" Unit and the CNRS "Biologie du Développement" Unit at Villefranche-sur-Mer and the Cellular Physiology Laboratory at the University of Nice.

1 - Introduction

The preservation of fundamental structural mechanisms common to all species from virus to man is one of the basic tenets of experimental biology. "Biological models" can thus be more readily used for studying certain aspects of biology or biochemistry.

Marine species constitute a very important reserve for experimental models for cell biology. During the last two decades, marine invertebrate fertilization has focused the attention of many researchers in disciplines as varied as embryology, biochemistry, environmental physiology, cell biology... Indeed, the biochemical events following fertilization of the eggs of marine invertebrate such as the sea urchin, the most studied species, are remarkably similar to those occurring in vertebrates eggs (including man) which are much more difficult to study. Furthermore, the mechanism of egg activation by sperm is comparable to other types of cell activation by such agents as hormones, growth factors and also oncogenes, the genes of cancer recently discovered. More generally, fertilized eggs provide a model for pharmacological and toxicological studies, easier to use than cell cultures.

2 - Invertebrate gametes, a model of fertilization and cell activation.

The evolution of multicellular organisms, which are formed of thousands of millions of cells, has depended on their ability to communicate with all the other cells. Communication between cells is required to regulate their development, control their growth and coordinate their various activities. Cells receive information via the endocrine and nervous systems from other cells, and via the nervous system from the environment of the organism.

The signalling messenger may be chemical (hormones, growth factors, neurotransmitters...), cellular (sperm...) or physical (light, pressure...). The signalling messenger is recognized by the target cell thanks to a specific protein, called a receptor, located in the cell membrane. This extracellular event is later converted into an intracellular signal in one of the ways : the generation of small intracellular molecules, called second messengers, like AMPc, GMPc or Ca⁺⁺, or the opening of membrane-bound ionic channels resulting in an influx of ions into the cytosol. This intracellular signal alters the behavior of the target cell in specific ways.

Much of what we know about these cell transduction and activation mechanisms has been learned from sea urchin egg fertilization studies. This is why endocrinologists, neurophysiologists, immunologists are interested in this event.

3 - Invertebrate gametes, a model for developmental biology and cancerology.

All the cells of multicellular animals descend from a single original cell resulting of the fusion of an egg and a sperm. After the fertilized egg has cleaved many times, the embryo cells undergo differentiation and spatial pattern formation. The control mechanism of these events has focused the attention of many laboratories throughout the world, but they remain poorly understood.

In a healthy organism, cell growth and differentiation are very carefully regulated processes. The loss of control regulating cell multiplication produce cancer. A very striking observation is that cancer cells are very close in their properties to the developing embryo. The oncogenes, the genes involved in cancer development are related to normal genes activated during cell growth. The fertilized sea urchin eggs which divide very rapidly (about 1 h. whereas cultured somatic cells only divide every 24 h.) is thus a very good model for understanding the control mechanism of cell division, especially since we can modify the development of larvae with chemicals. This is how sea urchins are used in medical research.

4 - Invertebrate gametes, a model for toxicology and pharmacology.

Depending on their concentration in the sea, pollutants may have short-term acute toxicity or a long term chronic biological effect. In fact, the essential problem facing the marine toxicologist is long term exposure to sublethal doses, whose accumulation can lead to insidious effects, one of the first being an alteration in cell calcium homeostasis, as in aging cells.

An adult organism possesses numerous systems contributing to the detoxification of pollutants. Unfortunately, the gametes, which, for most marine species, are dispersed in the sea, are thus directly exposed to chemical pollutants. Therefore, they are at the most sensitive stage in their life. Thus, success of fertilization represents a crucial turning point in the survival of a species, and should be studied in priority.

Thus, the sea urchin eggs is, once again, an excellent tool for elucidating mechanisms of action of a toxic substance or a pollutant. Pharmacological studies proceed similarly. For studying a new chemical for the purpose of creating a new drug, the pharmacologist needs a biological model : the sea urchin eggs is revealed again as a fascinating model for

testing antimetabolic drugs, antibiotics or even cardiotoxins or neurotoxins acting on specific ionic channels in cell membranes. It should be noted that the sea provides not only biological models but is also an inexhaustible source for new natural drugs.

5 - The role of the Monaco underwater reserve in these field of research.

The underwater reserve of Monaco represents a very attractive area for marine scientists from many Universities, from Montpellier to Genoa. Indeed, this reserve acts as a laboratory in which observations and research in a protected medium may be carried out. Furthermore, experimental animals can be immersed in cages to follow some biologic parameters. In this way, biologists can study the maintenance of certain marine animals directly in the sea, one of the purposes of modern aquaculture. Among the marine species which should be kept in priority, the sea urchin is a selected species, since its population has been very rapidly decreasing along our coast, because of the development of a disease ("the bald sea urchin") and excessive fishing.

Thus, the underwater reserve of Monaco, besides a key role in regional fundamental research in biology or medicine, could play an important economic role. Indeed, the reserve represents a protected area in which experimentation and then development of sea urchin aquaculture could be conducted before the extension of this technique throughout the Mediterranean sea.



Première division de l'œuf d'oursin (2 cellules) - A ce stade, l'œuf mesure environ 0,07 m/m soit la même taille que l'œuf humain.

Photo : J. Cosson

Les rythmes de la production d'engrais azotés dans les sédiments de la Réserve sous-marine de Monaco

François Fernex*, Michel Boisson**, Lazaro Vanderlei Fernandes*

* Lab. de Géodynamique sous-marine, U.A. CNRS 725 "Transfert de Matière", 06230 Villefranche/Mer

** Ass. Monégasque pour la Protection de la Nature.

Les sédiments marins sont le siège de transformations géochimiques qui sont liées à l'activité microbienne. Cette activité conduit, entre autres, à la transformation d'une grande part de la matière organique déposée, et de la sorte à la production d'engrais. Ainsi, les eaux situées entre les

granules des sédiments marins superficiels se trouvent enrichies en engrais azotés dissous : ammoniacque, nitrite, nitrate. Un flux peut alors s'établir à partir du sédiment vers l'eau de mer sus-jacente. Ces engrais - ou sels nutritifs - libérés par les sédiments peuvent s'ajouter à ceux déjà présents dans l'eau de mer, et contribuer au développement des végétaux marins, en particulier le phyto-plancton.

Une campagne de recherches sur 2 ans, en 1984-1985, a eu pour cadre la bordure de la réserve sous-marine de Monaco. Il s'agissait en particulier de déterminer le rythme des fluctuations des concentrations en sels nutritifs azotés dissous dans les eaux interstitielles, et, si possible, de trouver les causes des principales fluctuations. N'étant pas pollué, le site choisi permet de définir et de montrer quelles sont les transformations géochimiques normales en milieu sain. Il correspond à une référence en milieu littoral.

Excepté divers essais à Villefranche/Mer ou en Italie (cf. Gaillard et al., 1985 ; Barbanti et al., 1987), la technique de prélèvement des eaux interstitielles était appliquée de façon systématique pour la 1ère fois en Méditerranée. Elle est basée sur le principe de la dialyse. L'engin, construit dans une plaque d'alutglas, comporte des logettes superposées (Fig. 1).

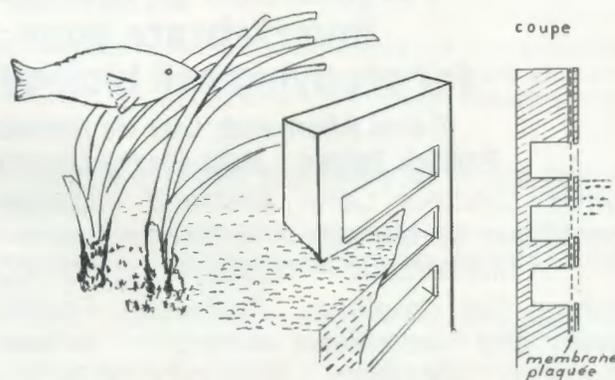


Fig. 1 - Représentation schématique de l'engin de prélèvement d'eaux interstitielles ("peeper" à membrane de porosité de 0,2 µm).

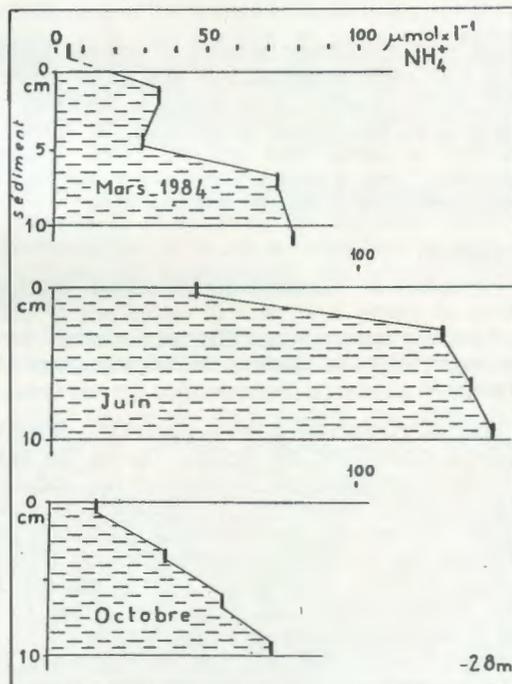


Fig. 2 - Profils des teneurs en ammoniacque dans les eaux des sédiments de la bordure méridionale de la Réserve sous-marine de Monaco. Mars, juin et octobre 1984. C'est la surface limitée par le profil jusqu'à 10 cm sous l'interface qui est prise en compte pour la représentation des fluctuations (Fig.3).

On remplit ces logettes d'eau bi-distillée, puis on les recouvre d'une membrane semi-perméable. L'engin est alors planté dans le sédiment verticalement. Après 3 semaines, l'équilibre ionique est atteint à chaque niveau entre l'eau interstitielle et l'eau de la logette. Il n'est donc pas nécessaire de prélever du sédiment qu'il faudrait ensuite centrifuger ou presser afin d'en extraire l'eau interstitielle. Le nitrate, le nitrite et l'ammoniaque ont été dosés par colorimétrie, à l'aide d'auto-analyseurs, selon des méthodes classiques en océanographie (Treguer et Le Corre, 1975).

Nous avons pu dresser les profils des concentrations. Ceux de l'ammoniaque sont présentés dans la Fig. 2 pour les mois de mars, juin et octobre 1984. On peut donner une expression globale des fluctuations entre 0 et -10 cm en considérant la surface hachurée, limitée par le profil. Cette surface est d'autant plus importante que les concentrations sont en moyenne plus élevées sur l'ensemble du profil. La Fig. 3 montre les fluctuations globales des teneurs en sels nutritifs azotés dans les eaux interstitielles de mars 1984 à janvier 1986. Ces fluctuations sont liées aux variations des concentrations en matière organique riche en azote (Billen, 1977 ; Golterman, 1984 ; Jahnke et al., 1982 ; Lyons, 1979 ; Wollast, 1980 ; etc...).

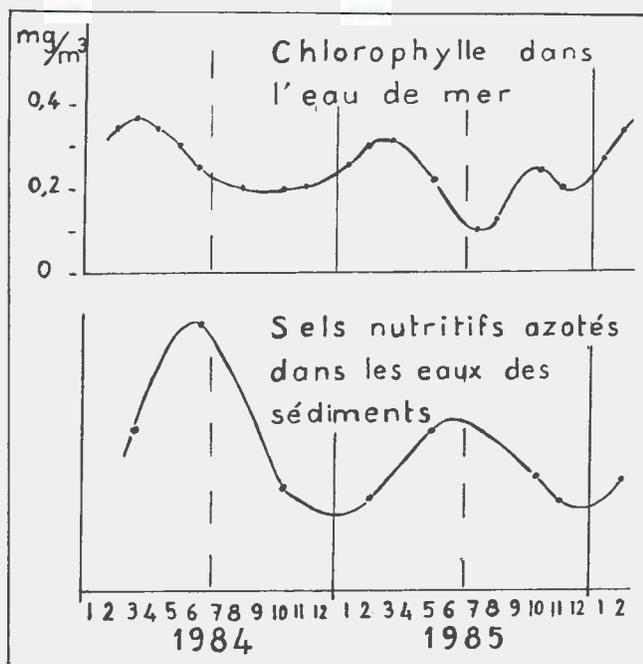


Fig. 3 – En haut : variations au cours du temps des concentrations en chlorophylle dans les eaux superficielles de la baie de Roquebrune ; afin de limiter les brèves fluctuations, en grande partie liées à l'échantillonnage, ce sont les valeurs des moyennes glissantes qui ont été prises en compte.

En bas : variations des teneurs en engrais azotés dissous dans les eaux des 10 premiers cm des sédiments (sans échelle ; hauteurs proportionnelles à la surface hachurée).

Pour déterminer l'origine d'une grande part de la matière organique présente dans les sédiments, il convient de connaître les cycles biologiques dans l'eau de mer de la région. Nous pouvons considérer la courbe des concentrations en chlorophylle dans la Baie de Roquebrune. Les mesures de la chlorophylle (dont la qualité est à peu près proportionnelle à la biomasse) ont été faites au Centre Scientifique de Monaco dans le cadre du Réseau National français d'Observation de la qualité du milieu marin. On constate que le maximum de chlorophylle précède d'environ 2 mois celui des teneurs en engrais azotés dans les eaux interstitielles (Fig. 3).

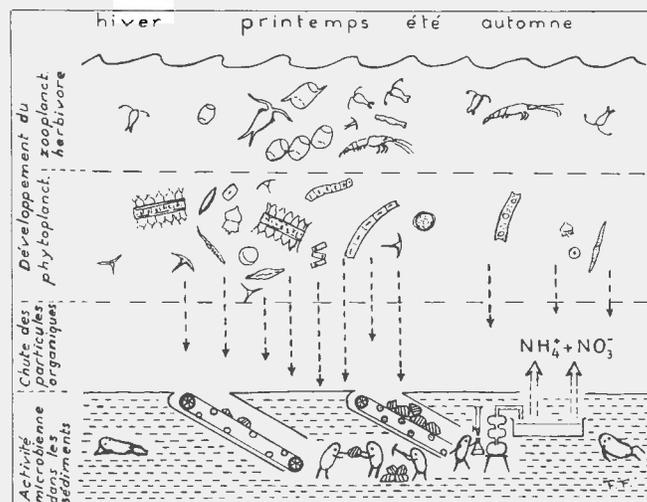


Fig. 4 – Schéma présentant l'évolution au cours du temps de la vie marine, en 1984 et 1985 ; et l'influence des cycles biologiques en mer sur les flux de matière organique vers les sédiments.

Quelle est la cause de la diminution de la biomasse après Mars ? Elle est liée au développement rapide d'organismes zooplanctoniques herbivores. Les débris d'organismes phytoplanctoniques plus ou moins digérés ou agglomérés dans du mucus par le zooplancton sédimentent et atteignent le fond où la décomposition bactérienne se poursuit et s'amplifie, et favorise la production de sels nutritifs (Klumps et Martens, 1981). Plus tardivement dans l'année, la forte consommation du phyto-plancton par le zoo-plancton aboutit à un tel appauvrissement de la bio-masse que l'apport en matière organique vers le fond est réduit (Braconot, 1971 ; Morris et al., 1987). Cela entraîne une diminution de la production de sels nutritifs dans les sédiments. Cependant les sels dissous dans les eaux des sédiments superficiels continuent de migrer vers l'eau de mer sus-jacente qui s'en trouve progressivement enrichie. Cet enrichissement, complété par l'apport de substances nutritives par les rivières et par le mélange d'eaux de mer profonde permet à nouveau un développement phytoplanctonique : le cycle suivant commence.

La mise en évidence de ces cycles bio-géochimiques montre bien l'importance des interactions entre eau de mer et sédiments. Les variations importantes au cours du temps telles qu'elles ont été observées en bordure de la Réserve sous-marine de Monaco apparaissent comme un témoignage du bon état de santé des fonds sous-marins.

Remerciements

Nous tenons à remercier les plongeurs qui nous ont aidé dans la pose des engins sur le fond et dans la récolte de sédiments : MM. D. Arnould, J. Garelli, Y. Magnani, C. Spiliotis-Saquet, L. Thouant et Gérard Geccherle.

The rhythms of the production of nitrates in the sediments of the Monaco underwater reserve

François Fernex*, Michel Boisson**,
Lazaro Vanderlei Fernandes*

Marine sediments are the site of geochemical transformations which are linked to the action of microbes. Among other things, this activity leads to the transformation of a large part of deposited organic material and thence to the production of manure. For this reason, the waters found between the granules of surface marine sediments are rich in dissolved nitrate-bearing substances such as ammonia, nitrites and nitrates. A current may then be set up from the sediment towards the seawater lying above it. These nitrates (or nutritive salts) freed by the sediments may join those already present in the seawater and contribute to the development of marine vegetation, in particular phytoplankton.

A research project was carried out over the two years 1984 and 1985 in the Monaco Underwater Reserve. In particular an attempt was made to determine the rhythm of the fluctuations in the concentrations in nitrogenous nutritive salts in the interstitial waters and if possible to discover the causes of the principal fluctuations. Being unpolluted, the area chosen made it possible to define and demonstrate what normal geochemical transformations take place in a healthy medium. It corresponds to a reference in the coastal medium.

Apart from several trials in Villefranche-sur-Mer or in Italy (see Gaillard et al., 1985; Barbanti et al., 1987), the technique of sampling the interstitial waters was applied in a systematic manner for the first time in the Mediterranean. It is based on the principle of dialysis. The device, which is made from a plate of altuglas, consists of a number of superimposed cells (Fig. 1). These cells are filled with water which has been distilled twice and are then covered with a semipermeable membrane. The device is then placed vertically in the sediment. After three weeks, ionic balance is achieved at every level between the interstitial water and the water in the cell. It is therefore unnecessary to sample the sediment which would have subsequently required centrifuging or compressing so as to extract the interstitial water. The nitrate, nitrite and ammonia contents were measured by colorimetry by means of auto-analysers in accordance with standard oceanographic methods (Treguer and Le Corre, 1975).

We have been able to draw up the profiles of the concentrations. Those for the ammonia are shown in Fig. 2 for the months of March, June and October 1984. A global expression of the fluctuations between 0 and -10 cm may be obtained by looking at the hatched area outlined by the profile. This surface is all the greater as the concentrations are on average higher over the whole of the profile. Fig. 3 shows the global fluctuations in the nitrogenous nutritive salt content in the interstitial waters from March 1984 to January 1986. These fluctuations are linked to the variations in the concentrations of organic matter rich in nitrogen (Billen, 1977; Golterman, 1984; Jahnke et al., 1982; Lyons, 1979; Wollast, 1980; etc...).

To determine the origin of a great part of the organic matter present in the sediments, it is useful to have information on the biological cycles in the seawater of the region. We can consider the curve of the concentrations of chlorophyll in the Bay of Roquebrune. The measurements of the chlorophyll (the quantity of which is approximately proportional to the biomass) were made by the Scientific Center in Monaco within the framework of the French

National Observation Network concerned with the quality of the marine environment. It will be noticed that the maximum chlorophyll reading occurs about two months earlier than that of the nitrate contents in the interstitial water (Fig. 3).

What was the reason for the reduction in the biomass after March? It was connected with the rapid development of herbivorous zooplanktonic organisms. The debris of phytoplanktonic organisms which are more or less digested or bound in mucus by the zooplankton becomes sediment and reaches the seabed where bacterial decomposition takes place and increases and makes possible the production of nutritive salts (Klumps and Martens, 1981). Later in the year, the high consumption of the phytoplankton by the zooplankton results in such and impoverishment of the biomass that the supply of the organic material towards the seabed is reduced (Braconnot, 1971; Morris et al., 1987). This brings about a reduction in the production of nutritive salts in the sediments. However, the salts dissolved in the waters of the upper sediments continue to move towards the overlying seawater which becomes gradually richer in them. This enrichment, completed by the supply of nutritive substances from the rivers and by the mixture of deep seawaters, makes possible a new phytoplanktonic development: the new cycle starts.

The demonstration of these bio-geochemical cycles shows plainly the importance of the interactions between seawater and sediments. The large variations with time which have been observed at the edge of the Monaco Underwater Reserve appear to be evidence of the good state of health of the deep-lying waters.

Bibliographie

- BARBANTI A., LANGONE L., PALTRINIERI D., PERONI C., ROSSI G., ROSSO G., VIEL M. (1987) – Pore water profiles in a Po Delta Lagoon. Coll. Internat. Océanol. "Eco-Marges" (Perpignan); C.I.E.S.M., Monaco, p. 36.
- BILLEN G. (1977) – Etude écologique des transformations de l'azote dans les sédiments marins. Thèse Univ. Libre Bruxelles, Fac. Sc., Lab. Environm.; 266 p.
- BRACONNOT J.C. (1971) – Contribution à l'étude biologique et écologique des Tuniciers pélagiques Salpidés et Diliolidés. Vie et milieu (Banyuls/Mer), XXII, 2, B, 257-286.
- GAILLARD J.F., JEANDEL C., MICHARD G., NICOLAS E., RENARD D. (1986) – Interstitial water chemistry of Villefranche Bay sediments. Marine Chemistry, 18 (Elsevier, Amsterdam), 233-247.
- GOLTERMAN H. (1984) – Sediments, modifying and equilibrating factors in the chemistry of fresh water. Verh. internat. Verein. Limnol., Schweizerbart'she Verl., Stuttgart, 22; 23-59.
- JAHNKE R., HEGGIE D., EMERSON S., GRUNDMANIS V. (1982) – Pore waters of the central Pacific Ocean. Earth and Planetary Science Lett., 61; 233-256.
- KLUMP J.V., MARTENS C. (1981) – Biogeochemical cycling in an organic rich coastal marine basin. Geochimica Cosmochim. Acta, 45; 101-121.
- LYONS W.B. (1979) – Early diagenesis of trace metals in nearshore Long Island Sound Sediments. Thesis, Ph D; Univ. of Connecticut; 274 p.
- MORRIS R.J., BONE Q., HEAD R., BRACONNOT J.C., NIVAL P. (1987) – Role of Salps in the flux of organic matter to the bottom of the Ligurian Sea. Marine Biology (Springer Verlag), 97; 237-241.
- TREGUER P., LE CORRE P. (1975) – Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Univ. Bretagne Occidentale, Lab. Océanogr. chimique, Brest; 110 p.
- WOLLAST R. (1980) – Dégradation mechanism of organic Nitrogen in surficial sediments. Coll. internat. CNRS, n° 293, "Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau-sédiment marin"; 155-165.

Renouvellement du Conseil d'Administration

Conformément aux dispositions des articles 8 et 12 des statuts régissant notre association, l'Assemblée Générale a été appelée le 8 avril 1987 à procéder à l'élection du nouveau bureau pour une durée de trois années.

Cette assemblée s'est tenue dans la salle des conférences de l'Ecole des Révoires, à 21 heures.

249 adhérents présents ou représentés ont élu à l'unanimité les candidats proposés. Ces derniers lors de la réunion restreinte du 29 avril ont procédé à l'élection du Conseil d'Administration qui est ainsi composé :

Président

M. Eugène Debernardi, Chargé de Mission au Département de l'Intérieur, Délégué à la Protection Civile et l'Environnement (E.R.)

Vice-Président

M. Marcel Kroenlein, Ingénieur, Directeur du Jardin Exotique.

Secrétaire Général

M. Michel Boisson, Docteur en Océanographie, Adjoint au Directeur du Centre Scientifique de Monaco.

Trésorier

M. Richard Milanesio, Maîtrise de Droit Public, Rédacteur à la Direction de l'Education Nationale, de la Jeunesse et des Sports.

Conseillers

M^{me} Muriel Mattone née Agliardi, Professeur de Sciences Naturelles au Collège Franciscain.

M. Denis Allemand, Docteur es Sciences, Chercheur au Centre Scientifique de Monaco.

M. Jacques Gaggino, Directeur de l'Ecole des Révoires

M. Jean-Claude Panizzi, Ingénieur Chimiste Directeur de Société

Nul doute que les compétences des nouveaux membres du bureau permettront de poursuivre les tâches entreprises par leurs prédécesseurs auxquels nous tenons à rendre hommage en regrettant leur départ dû à des raisons professionnelles ou familiales.



Récif artificiel alvéolaires (- 14 m)
Groupe d'ascidies (Halocynthia Papillosa)

Photo : Denis Arnould



Récif artificiel alvéolaires (- 14 m)
Ascidies : Halocynthia Papillosa
Congre : Conger Conger
Murène : Muraena Helena

Photo : Denis Arnould



Récif alvéolaire (- 28 m)
Rascasses : Scorpaena porcus
Ascidies : Halocynthia Papillosa

Photo : Denis Arnould