

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologies
Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire
Département : Biologie

Thème :

Identification et mesure de la réponse immunitaire chez le bivalve (*Perna perna*) du littoral Nord-Est de l'Algérie

Présenté par :

-CHAIR Boutheyna

-DJABRI Chaima

Devant le jury composé de :

Président : NEDJAH R. (Pr)

Université de Guelma

Examineur : KHALLEF M. (MCA)

Université de Guelma

Encadreur : DRIF F. (MCA)

Université de Guelma

Juin 2024

اللَّهُمَّ صَلِّ وَسَلِّمْ وَبَارِكْ عَلَى سَيِّدِنَا مُحَمَّدٍ

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En premier lieu, nous tenons à remercier Nedjah Riyad de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent aussi à Khallelf Messaouda.

D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur Mme : Drif Fahima, son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Merci



Dédicaces

Je dédie ce modeste mémoire : A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, qui m'a donné la patience et la force de faire ce travail que je dédie : Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.

Maman Keltoume ;

La lumière de mes yeux, le bonheur de ma vie, qui m'a soutenu durant mes années d'études, pour sa sacrifice et pour sa confiance en moi, sa courage et sa sécurité.

Papa Mohamed Tahar

Qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes chers frères (Azedine et Yassine)

Je dédie aussi ce travail à toute ma famille Chair et Zaoui Gurfi.

À tous mes vraies amies qui ont répandues présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux. (Rahma, Donya, chaïma Et Roufaïda)

Mon binôme Chaïma

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour elle, Qui a partagé avec moi les moments intéressants et difficiles de ce travail.

À toute La promotion de zème année master Biologie moléculaire et cellulaire LMD Promotion 2024.

Boutheyna



Dédicaces

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie : Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents.

Maman Hakima ;

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie, qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

Papa Abde El Ghani ;

Qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

C'est grâce à vous que je suis arrivée aujourd'hui à ce niveau d'étude.

*Mes très chères : Mes sœurs Asya, Samah, Ayda, Et Bouchra
Et mon frère Bilal.*

À tous mes vraies amies qui ont répandues présent à chaque fois que j'avais besoin d'eux. (Rahma, Marwa, Roua ET Manel)

Mon binôme Boutheyna qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

Et à toute la promotion de master 2 Biologie moléculaire et cellulaire Promotion 2024.

Chaïma

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Abstract

I. Introduction..... 1

Etude bibliographique

II. Generalites sur la pollution 4

1. La pollution marine..... 4

2. Types de pollution marine : 4

2.1. Pollution physique..... 4

2.2. Pollution biologique..... 5

2.3. Pollution chimique..... 5

2.4. Pollution radioactive 5

3. Les polluants 6

4. Les polluants des milieux aquatiques 7

5. Impact des polluants sur le milieu marin 7

6. Les types de polluants 8

6.1. Les macro-polluants..... 8

6.2. Les micropolluants 8

7. Les risques liés à la contamination bactériologique des bivalves..... 8

8. La surveillance et les bio-indicateurs..... 9

9. L'importance alimentaire des bivalves..... 10

10. Les bivalves en écotoxicologie 10

11. Effets toxiques..... 10

III. Generalites sur mollusques bivalves 13

1. Anatomie 13

1.1. Anatomie externe..... 13

1.2. Anatomie interne 15

2. Alimentation 20

3. Reproduction 20

4. Mortalités	21
5. Description de l'espèce <i>Perna perna</i>	22
6. Biotope.....	22
7. Taxonomie.....	23
8. La morphologie externe	23
9. Morphologie interne.....	24
10. Physiologie.....	25
IV. Generalites sur le systeme immunitaire	28
1. Système immunitaire.....	28
2. La réponse immunitaire cellulaire	29
2.1. Les hémocytes	29
2.2. Fonctions des hémocytes	29
2.3. Les mécanismes de défense cellulaire	30
2.4. La phagocytose	30
2.5. L'encapsulation	32
2.6. La mort cellulaire programmée	33
3. La réponse immunitaire humorale	33
3.1. Lysozyme et enzymes lysozomales	34
3.2. Lectines.....	34
3.3. Cytokines.....	34
3.4. Les Peptides antimicrobiens (PAMs).....	34
4. Facteurs agissant sur ces mécanismes	36
<i>Etude Expérimentale</i>	
1. Présentation et choix de la zone d'étude	39
2. Présentation et choix de l'espèce étudiée.....	40
3. Stratégie d'échantillonnage	40
4. Prélèvement de l'hémolymphe	40
5. Technique de la coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG)	41
5.1. Principe	41
5.2. Réalisation d'un frottis d'hémolymphe	42
<i>Résultats et Discussion</i>	
VI. Resultats.....	44
1. Caractérisation des hémocytes	44
2. Détection des malformations	46
VII. Discussion.....	48
Conclusion.....	52

Liste des abréviations

% : Pour cent

° C : Degré celsius

Al : Altération des lamelles

As : Arsenic

Cm : Centimètre

g : Gramme

Gr×1000, ×1600 : Grossissement

Gr : granule

Hg : Mercure

HI : Grande ou large hyalinocytes

Hs : Petite hyalinocytes

KDa : kilodalton

m : Mètre

M. galloprovincialis : *Mytilus galloprovincialis*

MGG : May-Grünwald Giemsa

ml : Millilitre

mm : Millimètre

Mn : Micronoyaux

mS : Millisiemens

n : noyau

P. perna : *perna perna*

PAMPs : Pathogen-Associated Molecular Patterns

Pb : Plomb

PCB : Polychlorobiphényles

pH : Potentiel hydrogène

PRR : Pattern Recognition Receptors

psu : practical salinity unit

Liste des tableaux

Tableau 1: Origines et natures de différentes sources de pollution du milieu aquatique.....	6
--	---

Liste des figures

Figure 1. Principaux constituants d'une coquille de bivalve	15
Figure 2 . Les différentes empreintes musculaires sur la valve de <i>Mytilus galloprovincialis</i> (à droite)	17
Figure 3. Morphologie externe de la moule <i>P.perna</i>	24
Figure 4 . Anatomie interne et externe de la moule <i>perna perna</i>	25
Figure 5 Représentation schématique des activités immunitaires cellulaires des invertébrés après une invasion par des microorganismes d'après	30
Figure 6. Processus de phagocytose et d'encapsulation des hémocytes	32
Figure 7. Les systèmes de défense chez les bivalves	35
Figure 8. Site d'El-Henaya.....	39
Figure 9. Site de Sidi Salem	39
Figure 10. Effectuation du prélèvement au niveau du muscle adducteur postérieur chez la moule.....	41
Figure 11. Détermination du sexe	41
Figure 12. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis des males de <i>P. perna</i>	45
Figure 13. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis des femelles de <i>P. perna</i>	46
Figure 14. Présentation des frottis de l'espèce <i>P. perna</i>	47
Figure 15. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis de <i>P. perna</i>	47

RESUME

Le golfe d'Annaba constitue l'un des principaux pôles touristiques et économiques de la côte algérienne, tirant parti de ses ressources halieutiques abondantes. Cependant, cette activité en pleine expansion s'accompagne malheureusement d'une pollution préoccupante des eaux du golfe, menaçant gravement ces mêmes ressources marines.

Cette étude avait pour objectif d'utiliser la coloration au May-Grünwald-Giemsa, une technique cytologique courante, pour visualiser et caractériser morphologiquement les cellules de l'hémolymphe (fluide circulatoire) chez la moule *Perna perna*. Des échantillons ont été prélevés de deux sites de ces côtières de willaya d'Annaba, Sidi Salem et El-Hnnaya. Un nombre de six individus (3 mâles et 3 femelles) a été étudié.

En se basant sur une recherche bibliographique approfondie concernant les critères de classification des bivalves, elle nous a permis d'identifier une dizaine d'espèces qui colonisent la côte d'Annaba.

Un examen microscopique des frottis a permis d'analyser la composition de l'hémolymphe (sang des invertébrés) chez ce mollusque bivalve. Différents types d'hémocytes ont été identifiés, notamment des agranulocytes, des granulocytes et des hyalinocytes. Certains granulocytes présentaient des granules colorés dans le cytoplasme, tandis que les hyalinocytes avaient un cytoplasme réduit et plus clair avec deux aspects distincts (grand et petit).

Des altérations cellulaires ont été observées au niveau des frottis des deux sites chez les deux sexes. Également, il a été repéré des fragmentations des noyaux et des destructions membranaires, avec une différence signalée de degré d'altération entre les sites.

Ces résultats fournissent des informations précieuses sur la morphologie des hémocytes de l'espèce résidant dans la région. Aussi, la caractérisation morphologique contribue à mieux comprendre la composition de l'hémolymphe et son rôle physiologique important, notamment dans le système immunitaire impliqué dans la lutte contre les agents pathogènes qui présentent un véritable danger pour les écosystèmes aquatiques.

Mots clés : Mollusques bivalves, *Perna perna*, caractérisation, May-Grünwald-Giemsa, hyalinocytes, granulocytes, willaya d'Annaba, Sidi Salem, El-Hannaya.

ABSTRACT

The Gulf of Annaba constitutes one of the main tourist and economic hubs of the Algerian coast, taking advantage of its abundant fishery resources. However, this rapidly expanding activity is unfortunately accompanied by a worrying pollution of the waters of the gulf, seriously threatening these same marine resources.

The objective of this study was to use May-Grünwald-Giemsa staining, a common cytological technique, to visualize and morphologically characterize the hemolymph (circulatory fluid) cells in the mussel *Perna perna*. Samples were collected from on this coast two sites coastal in Annaba state, Sidi Salem and El-Hnnaya. A number of six individuals (3 males and 3 females) were studied.

Based on an in-depth literature search on the classification criteria of bivalves, it has allowed us to identify about ten species that colonize the Annaba coast.

A microscopic examination of the smears allowed the analysis of the composition of the hemolymph (invertebrate blood) in this bivalve mollusk. Different types of hemocytes were identified, including agranulocytes, granulocytes, and hyalinocytes. Some granulocytes had colored granules in the cytoplasm, while the hyalinocytes had a reduced and clearer cytoplasm with two distinct aspects (large and small).

Cellular alterations were observed in the smears of the two sites in both sexes. Also, nuclear fragmentations and membrane destructions were detected, with a reported difference in the degree of alteration between the sites.

These results provide valuable information on the morphology of the hemocytes of the species residing in the region. Also, the morphological characterization contributes to a better understanding of the composition of the hemolymph and its important physiological role, particularly in the immune system involved in the fight against pathogens that pose a real danger to aquatic ecosystems.

Keywords : Bivalve mollusks, *Perna perna*, characterization, May-Grünwald-Giemsa, hyalinocytes, granulocytes, Annaba state, Sidi Salem, El-Hannaya.

المخلص

يُعد خليج عنابة أحد الاقطاب السياحية والاقتصادية الرئيسية في الساحل الشرقي للجزائر، مستفيدًا من موارده السمكية الوفيرة. ومع ذلك، فإن هذا النشاط المزدهر يصاحبه، للأسف، تلوث مقلق لمياه الخليج، مما يُهدد بشدة هذه الموارد البحرية ذاتها.

الهدف من هذه الدراسة هو استخدام تقنية تلوين الخلايا **May-Grünwald-Giemsa** ، وهي تقنية خلوية شائعة الاستخدام، لتحديد ووصف خلايا الدم عند بلح البحر *Perna perna*. تم دراسة ستة أفراد (ثلاثة ذكور وثلاث إناث) من موقعين مختلفين على طول ساحل ولاية عنابة وهما سيدي سالم والحناية.

استنادًا إلى بحث معمق فيما يخص معايير تصنيف ثنائيات الصدفة، تمكنا من تحديد حوالي عشر أنواع تستوطن ساحل عنابة.

سمح الفحص المجهرى للمسحات الدموية بمعرفة مكونات الدم (دم اللافقاريات) لهذا الرخوي ثنائي الصدفة. تم تعيين أنواع مختلفة من خلايا الدم، بما في ذلك الخلايا غير المحببة والخلايا المحببة والخلايا شبه الشفافة. كانت بعض الخلايا المحببة تحتوي على حبيبات ملونة في السيتوبلازم، بينما كان السيتوبلازم محدودًا وأكثر وضوحًا لدى الخلايا شبه الشفافة مع وجود نوعين لهذه الأخيرة (كبير وصغير).

تم ملاحظة المسحات الدموية للموقعين عند كلا الجنسين. كذلك، لقد لوحظ انشطار الانوية وتدمير الاغشية، مع وجود اختلاف متفاوت في هذه التشوهات المورفولوجية بين افراد الموقعين.

توفر هذه النتائج معلومات قيمة حول مورفولوجيا خلايا الدم للأنواع المتواجدة في المنطقة. كذلك، يساهم الوصف المورفولوجي في فهم أفضل لمكونات الدم ودوره الوظيفي المهم، لا سيما في النظام المناعي المشارك في مكافحة الاجسام المرضية التي تشكل خطرًا حقيقيًا على النظم البيئية المائية.

الكلمات الرئيسية: الرخويات ذات الصدفتين، *Perna perna*، التوصيف، May-Grünwald-Giemsa ، الخلايا الشفافة ، الخلايا المحببة، ولاية عنابة ،سيدي سالم ،الحناية.

Introduction

I. Introduction

L'environnement aquatique est aujourd'hui confronté à des effets croissants et substantiels provenant de sources multiples de contamination, notamment d'un niveau élevé de pollution. Des effets néfastes de cette contamination sur les écosystèmes ont été bien documentés ces dernières années par surveillance de l'impact biologique des contaminants (**Thain et al., 2008**). Les programmes de biomonitoring utilisés pour surveiller l'environnement aquatique intègrent les données de biomarqueurs et de bioaccumulation dans différentes espèces bioindicatrices pour évaluer le stress induit par les polluants (**Moore et al., 2004 ; Sarkar et al., 2006**).

Les mollusques bivalves, particulièrement les moules, ont été élus comme organismes sentinelles dans des programmes internationaux de surveillance de l'environnement en raison de leur capacité d'accumuler des polluants dans leurs tissus (**Bayne, 1976 ; Tsangaris, 2011**). Ces substances permettent d'activer des stratégies de bioréparation avant que des dommages graves ne soient faits (**Galloway, 2007**), par la cicatrisation d'une blessure, la recalcification de la coquille en impliquant leur système de défense. Plus gravement, il est impliqué lorsqu'un pathogène envahit le corps des organismes. Ce dernier assure aussi le transport, la digestion de nutriments et l'excrétion (**Cheng, 1996**).

L'hémolymphe est le liquide circulatoire des invertébrés dont le rôle est analogue au sang des vertébrés. Il joue un rôle essentiel dans la réponse immunitaire et la défense contre les agents pathogènes par sa composition en hémocytes. Les caractères morphologiques de ces cellules sont essentiels à la compréhension de leurs fonctions et de leur rôle dans la réponse immunitaire de l'organisme.

La côte algérienne, qui s'étend sur une longueur de 1,200 km, abrite une variété d'organismes aquatiques très diversifiée. Le golfe d'Annaba, situé à l'est de cette côte, témoigne de l'existence et de l'abondance de l'espèce *Perna perna* d'intérêt économique pour la population locale.

L'étude s'intéresse à l'identification d'une dizaine d'espèces bioindicatrices de bivalves trouvées sur certains emplacements du golfe. Ainsi, une lecture microscopique des frottis pour caractériser les hémocytes détectées au niveau des sites de prélèvement chez les deux sexes de la moule. Le travail est réparti en trois volets, un premier concernant une bibliographie, un

second pour l'expérimentation et finalement le troisième pour l'interprétation et la discussion de résultats

*Etude
bibliographique*

II. Generalite sur la pollution

La pollution est l'introduction des molécules xénobiotiques qui présentent des propriétés toxiques même à des concentrations très faibles dans l'environnement (**Coleman *et al.*, 1997**). Elle consiste à altérer la qualité du milieu marin en affectant à la fois les parties aqueuses et particulaires.

Les mers constituent un refuge mondial pour tous les déchets produits par les activités humaines, qu'ils soient issus de l'urbanisation ou du transport par courants de la mer. Ces déchets abandonnés dans les océans ne deviennent réellement polluants que lorsqu'ils causent des dommages aux écosystèmes marins et par conséquent, à l'espèce humaine qui exploite les ressources marines (**Ramande, 1982**).

1. La pollution marine

La présence et les effets de modificateurs dans un environnement aquatique. Il pourrait s'agir de l'introduction d'un produit chimique nocif pour certaines espèces. Ou pour toutes les espèces, modification de certains paramètres physiques, comme la température, ou introduction de rayonnements provenant de vibrations, de virus, de bactéries (**Pérès, 1976**).

On distingue souvent selon la nature de l'altérage plusieurs types de pollution :

- La pollution physique.
- La pollution biologique.
- La pollution chimique.
- La pollution radioactive.

2. Types de pollution marine :

2.1. Pollution physique

Cela est dû à la grande quantité d'eau contenue dans les éléments fins qui restent en suspension : particules de charbon et de silice, sable, boues provenant d'eaux usées industrielles ou d'eau chantier de construction (**Aminot et Guillaud, 1993**).

2.2. Pollution biologique

Le terme « pollution biologique » fait référence à l'accumulation de micro-organismes pathogènes tels que des bactéries, des champignons, des algues et même des virus qui proviennent de déchets urbains ou industriels (**Gauthier et Perry, 1980**). Il peut s'agir également, de l'introduction d'espèces marines (telles que *Caulerpe taxifolia* et *Caulerpe rassîmes*), d'algues brunes (telles que la focophycée japonaise) ou de mollusques spécifiques (**Gauthier et Perry, 1980**). Ces espèces peuvent être introduites dans la mer par une variété de méthodes.

2.3. Pollution chimique

La pollution chimique n'est qu'un aspect possible des perturbations anthropiques de la vie marine, qui comprennent également la pollution bactérienne, la pollution thermique, les effets associés à l'introduction d'espèces étrangères, de matières sédimentaires ou de macrodéchets. Donc il s'agit de l'introduction de produits chimiques, liée à des effets défavorables sur la faune et la flore marine (**Marchand, 2005**).

2.4. Pollution radioactive

Les problèmes posés par la pollution radioactive du milieu marin sont particulièrement importants aujourd'hui en raison de la demande croissante d'énergie et des développements attendus dans la construction de centrales nucléaires et d'usines de combustible à combustion traitée par irradiation. La radioactivité a deux origines : l'origine naturelle : attribuable aux rayons cosmiques et à la présence de radionucléides dans l'environnement, qui font partie des éléments observables du monde. Tandis que l'origine artificielle : fait référence à l'introduction d'éléments radioactifs associés à l'utilisation de l'énergie atomique. Ce sont les éléments qui constituent la pollution radioactive dans l'environnement marin (**Pérès, 1976**).

Tableau 1: Origines et natures de différentes sources de pollution du milieu aquatique (Chouteau, 2004).

Type de pollution	Nature	Origines
Physique	Rejets d'eau chaude	Centrales thermiques, nucléaires
	M.E.S. (matières en suspension)	Rejets urbains, érosion des sols
Chimique	Matière organique	Effluents domestiques, agricoles, Agroalimentaires
	Fertilisants (nitrate, phosphate)	Agriculture, lessives
	Métaux (Cd, Pb, Hg, Al, As...)	Industrie, agriculture, déchets
	Pesticides (insecticides, herbicides, Fongicides)	Industrie, agriculture
	Organochlorés (PCB, solvants)	Industries
	Composés organiques de synthèse	Industries
	Détergents	Effluents domestiques
Hydrocarbures	Industrie pétrolière, transports	
Biologique	Bactérie, virus, champignons	Effluents urbains, agricoles

3. Les polluants

Ces éléments sont des substances qui contaminent un ou plusieurs compartiments (air, sol, eau) ou un organisme, et qui ont une influence sur ces derniers au-delà d'un seuil ou d'une norme. Ces altérables, qu'ils soient biologiques, physiques ou chimiques, ont des effets néfastes sur l'ensemble ou une partie d'un écosystème au-delà d'un seuil donné, et parfois dans certaines conditions (potentialisation).

En tant qu'exemple, Les métaux lourds ne se limitent pas à détériorer l'écosystème, ce qui entraîne des risques. Les organochlorés, les pesticides, les hydrocarbures et la pollution microbienne et virale ont également un impact négatif sur l'environnement (UNEP/WHO, 1999). Outre, lors de la baignade ou de la consommation des bivalves, la présence de micro-organismes pathogènes peut constituer un danger pour l'environnement sanitaire (Brisou, 1968).

4. Les polluants des milieux aquatiques

La contamination de l'environnement marin résulte des activités humaines, industrielles, urbaines ou agricoles rejetant des effluents pollués, conduisant à autant de formes de contamination.

Le rejet accidentel de substances contaminées ou d'eaux usées dans les milieux aquatiques n'est pas le seul facteur contribuant à la pollution des eaux de surface ou souterraines. Les précipitations permettent en fait aux polluants rejetés par l'atmosphère de réapparaître sur les surfaces et les zones polluées. Ces xénobiotiques peuvent pénétrer dans l'environnement aquatique. Parce qu'il s'agit de si petites molécules, elles peuvent potentiellement contaminer les écosystèmes aquatiques (**Zaimeche, 2015**).

Exceptionnellement, les métaux lourds (tels que le zinc, le cuivre, le plomb, etc.) sont considérés comme des micropolluants en raison de leur présence dans divers compartiments environnementaux à des niveaux de trace. Ils continuent à être des substances dangereuses pour les êtres vivants, en raison de leur toxicité et de leur persistance (**Dirilegen, 2000 ; Chouteau, 2004**).

5. Impact des polluants sur le milieu marin

Il est difficile de quantifier les molécules présentes dans l'environnement en utilisant des méthodes chimiques en raison de leur variété. Le transfert des différentes molécules vers l'environnement aquatique sera influencé par leurs caractéristiques physicochimiques (**Galgani et Bocquené, 1998**). Étant donné que la présence de substances dégradantes et de métabolites, dont l'analyse est souvent beaucoup plus complexe, voire impossible pour certains, pose un défi pour évaluer la véritable contamination de l'environnement (**Getzin, 1985**).

Beaucoup de recherches ont mis en évidence leurs conséquences néfastes sur les organismes vivants qui n'ont pas été touchés grâce le traitement phytosanitaire qui à influencer la disponibilité de ces éléments dans les organismes vivants (**Maroni et al., 2000 ; Adedeji et Okocha, 2012 ; Sani et Idris, 2016**). De plus, la biogéochimie des pesticides dans les eaux marines est complexe, avec des variations dans la forme spécifique ou libre des composés et leur répartition dans les compartiments biotiques et abiotiques (**Sensi et Jeng, 2004**).

Les conséquences des métaux lourds sur l'environnement marin sont perçues comme un enjeu majeur pour l'environnement (**Splittgerber et Tappel, 1979**). Ces micropolluants peuvent entraîner une perturbation des processus biologiques, en stimulant la production de radicaux

libres (Sensi et Jeng, 2004) et en inhibant les activités enzymatiques de certains antioxydants (Splittgerber et Tappel, 1979).

6. Les types de polluants

Il existe dans l'environnement marin énormément de polluants : chimique, physiques, et biologiques, perturbent l'écosystème et diminuent la consommation d'eau, leur comportement dans l'environnement dépend de leur disponibilité et de leur solubilité dans l'eau (RNB, 1999).

6.1. Les macro-polluants

Il s'agit de molécules naturelles qui sont présentes dans l'environnement en quantités différentes de celles généralement observées, ce qui entraîne une augmentation de l'horloge des réactions biochimiques.

6.2. Les micropolluants

Ce sont des matériaux ou des matières organiques qui ont le potentiel d'être toxique à des concentrations extrêmement élevées (inférieures ou égales à une partie pour mille). Les différents compartiments peuvent être contaminés par des micropolluants. L'eau, l'air et le sol puisqu'ils sont directement incorporés dans l'écosystème lui-même. Les mécanismes qui transmettent ces polluants de leurs points d'émission et zones de contamination vers le sol, les eaux de surface et les eaux souterraines affectent leur cycle de vie qui est lié au cycle de l'eau. En raison de leurs caractéristiques inhérentes, les micropolluants sont dangereux. Le risque pour la santé humaine ainsi que pour la vie aquatique et les écosystèmes dépend de la durée et de l'intensité de leur exposition à l'eau (facteurs d'exposition).

Ces polluants font l'objet d'une surveillance de l'environnement. Cependant, en raison de la variété des contaminants, de leur faible concentration et de la multiplicité des composés, il est difficile de les détecter dans les cours d'eau qu'après concentration (RNB, 1999).

7. Les risques liés à la contamination bactériologique des bivalves

On pense que les bactéries qui contaminent les fruits de mer sont des pathogènes humains (Altemeyer *et al.*, 1990), ils sont représentés par :

- Les bactéries entériques qui provoquent la fièvre typhoïde (*Salmonella typhi*, de choléra (*Vibrio cholerae*), de gastro-entérites (*Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* et *Shigella dysenteriae*) et de *Salmonella paratyphi* A, B et C.

- Les bactéries non entériques (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus D* et *Staphylococcus aureus*).

Les maladies microbiologiques d'origine alimentaire sont responsables d'un nombre important de décès dans le monde et, dans les pays en développement, ces maladies ont des ramifications sanitaires, politiques et économiques particulièrement graves (**Käferstein et al., 1997**).

8. La surveillance et les bio-indicateurs

En raison de l'augmentation de la consommation de produits marins, en particulier de fruits de mer (**Tantillo et al., 2004**) ainsi que, des changements actuels dans la réglementation relative à la santé de ces produits. Un programme de surveillance bactérienne des produits à base de poisson est essentiel pour prévenir les maladies d'origine alimentaire et exige l'utilisation de méthodes d'analyse microbiologique alimentaires fiables et standardisées, il n'existe actuellement aucune méthode de référence vraiment efficace pour la recherche et l'identification des bactéries dans les aliments. De plus, le recours à des tests biochimiques ne permet pas toujours d'identifier l'espèce et il est souvent nécessaire de se tourner vers des techniques moléculaires (**Hirsch, 2002**).

Le fondement de la biosurveillance de la qualité de l'environnement est l'utilisation de bioindicateurs, qui sont des organismes ou des groupes d'organismes utilisés pour évaluer l'abondance, la présence et la biodisponibilité des toxines environnementales par l'intermédiaire entre les quantités mesurées dans ces organismes prises comme un entier dans un ou plusieurs organes et tissus (**Chambost-Manciet, 2002**).

Compte tenu de leur capacité à concentrer les polluants, les organismes marins sont utilisés comme bio-indicateurs dans cette surveillance. L'espèce *Mytilus galoprovincialice* est largement dispersée sur la côte méditerranéenne et est fréquemment utilisée dans les études sur la contamination marine (**Gaspar et al., 1999 ; Usero et al., 2005**). De plus, cette espèce se trouve en densités plus élevées le long des plages autour du golfe d'Annaba en Algérie.

Un bioindicateur doit répondre aux qualités suivantes :

- Facilement reconnu et sans ambiguïté au dans l'aire de répartition de l'espèce
- Abondant et largement réparti
- Facile à rassembler et à manipuler ; Avoir une durée de vie suffisamment longue
- Suffisamment grand pour fournir la quantité de tissus nécessaire pour les analyses individuelles

- Résistant à la souche de manipulation pendant la récolte ou en laboratoire
- Un bioaccumulateur efficace de polluants (**Phillips, 1980 ; Bryan *et al.*, 1985**).

9. L'importance alimentaire des bivalves

Au niveau mondial, les produits de la pêche sont la principale source de protéines animales pour les populations, parmi ces produits les poissons et les mollusques (**Glatman *et al.*, 2000 ; Gelman *et al.*, 2001 ; O'Sullivan *et al.*, 2002 ; Dortu *et al.*, 2009**). En 2000, 130 millions de tonnes de poissons et de fruits de mer ont été mis en consommation à travers le monde et représentent une ressource commerciale essentielle dans de nombreux pays (**McLachlan, 1996 ; FAO, 2002**). Ces organismes jouent un rôle crucial dans la chaîne alimentaire aquatique et son équilibre (**Gaspar *et al.*, 1999 ; Moukrim *et al.*, 2003 ; Usero *et al.*, 2005**).

Sur le plan nutritionnel, les crustacés et les bivalves présentent une concentration protéique élevée avec une faible teneur en lipides et un taux important des acides gras oméga 3, des minéraux tels que le fer, l'iode et le sodium, ainsi que des vitamines (A, D, B₂ et B₁₂) (**Holland *et al.*, 1993**). Ces aliments sont généralement consommés crus ou peu cuits (**Smith *et al.*, 2001 ; Potasman *et al.*, 2002**).

10. Les bivalves en écotoxicologie

L'écotoxicologie se caractérise par l'étude des conséquences néfastes des substances chimiques sur les écosystèmes, en prenant les conséquences tant sur les individus que sur la population (**Walker *et al.*, 2006**). Les différentes espèces, animales ou végétales, sont utilisées pour évaluer de manière approfondie le risque toxique potentiel d'une substance polluante ou d'un mélange complexe de polluants. Les mollusques ont été parmi les premiers organismes de surveillance utilisés dans les études de surveillance des écosystèmes aquatiques marins et dulçaquicoles. En tant que consommateurs primaires, ils jouent un rôle de transition dans l'ensemble de la chaîne alimentaire de ces écosystèmes, contribuant ainsi à maintenir l'équilibre de ces milieux (**Reice et Wohlenberg, 1993**).

11. Effets toxiques

L'impact des polluants sur les écosystèmes et la santé humaine est une préoccupation de plus en plus préoccupante à mesure que le nombre de molécules rejetées dans l'environnement continue d'augmenter (**Moore, 2002**). Les perturbations environnementales comprennent différentes combinaisons de tous les facteurs de stress (**Moore *et al.*, 2004**).

Par conséquent, le risque pour la santé biologique constitue un défi important étant donné la complexité des facteurs potentiellement impliqués, mais les effets néfastes sur la santé individuelle doivent être identifiés efficacement et les causes identifiées (**Moore, 2002**).

La plupart des polluants sont non dégradables et ont une longue durée de vie dans les écosystèmes marins. Le comportement des organismes face aux contaminants dépend de la substance xénobiotique considérée. Dans la plupart des cas, le composé se bioaccumule et ensuite biotransformé ou excrété. Les effets biologiques des substances exogènes proviennent principalement du métabolisme ou de la biotransformation dans l'organisme (**Van der Oost et al., 2003**).

La membrane plasmique des organismes colonisant les eaux est la première barrière que les polluants traversent, ce qui explique pourquoi l'accumulation semble plus importante dans les corps de ces organismes que dans leur milieu d'habitat. Le taux de bioconcentration augmentera d'autant que la molécule sera éliminée plus lentement si la pénétration est lente. En outre, il est possible que certains polluants présentent une concentration plus élevée chez le prédateur que chez leur proie. De cette manière, des substances comme le mercure présentent des niveaux de bioconcentration très élevés pour les prédateurs supérieurs (**Marteil, 1974**).

La présence de polluants entraîne des conséquences directes ou indirectes à l'échelle cellulaire, ce qui entraîne des conséquences néfastes sur les systèmes physiologiques tels que le système reproducteur (d'un **Pellerin-Massicotte et al., 1993 ; Gagne et al., 2002**) et endocrinien (**Blaise et al., 1999**). La reproduction est considérée comme un élément clé pour maintenir l'équilibre des communautés dans les écosystèmes.

Outre des effets sur le système de défense immunitaire (**Cajaraville et al., 1996**), plusieurs contaminants ou des concentrations différentes du même contaminant peuvent entraîner des réactions hémocytaires variées. Les altérations détectées du système immunitaire des mollusques bivalves sont :

Une diminution de la fonction immunitaire : les métaux lourds, les pesticides et les hydrocarbures peuvent altérer les mécanismes de défense immunitaire des mollusques, comme la phagocytose, les réponses cellulaires et humorales ; cela les rend plus sensibles aux infections et aux maladies (**Gagné, 2014**).

- Une perturbation de la régulation du système immunitaire : certains contaminants peuvent dé-régulariser la production de cytokines et autres médiateurs immunitaires cela peut conduire à une réponse immunitaire exacerbée ou inadaptée (**Canesi et al., 2008**).
- Une induction de l'apoptose ou la nécrose des hémocytes (cellules immunitaires) des mollusques cela diminue le nombre et la fonctionnalité des cellules immunitaires (**Matozzo et al., 2012**).
- Un stress oxydatif déclenché : les contaminants peuvent générer un stress oxydatif, entraînant des dommages aux biomolécules et structures cellulaires des cellules immunitaires cela affecte leurs capacités de défense et de réponse (**Canesi et al., 1999**).

Une bioaccumulation et bioamplification : Certains contaminants comme les métaux lourds et les PCB ont tendance à s'accumuler dans les tissus des mollusques cela entraîne une exposition chronique et des effets toxiques accrus sur le système immunitaire (Chandurvelan et al., 2012).

Les pesticides peuvent pénétrer dans l'organisme par inhalation ou digestion (alimentation) ou par contact direct avec la peau, provoquant une légère irritation cutanée (**Almeida, 1982**). Les effets de l'exposition peuvent entraîner des troubles neurologiques et hématologiques, des troubles congénitaux et des tumeurs (**Savage et al., 1988**). Particulièrement, chez les bivalves et par filtration, ces organismes accumulent de grandes quantités d'hydrocarbures lors de la contamination par les hydrocarbures (**Lacaze, 1980**). En outre, plus dangereux sont les effets des éléments métalliques du milieu marin sur la vie aquatique aux niveaux cellulaire et moléculaire, provoquant une hypertension artérielle et des problèmes pulmonaires, rénaux, osseux et hépatiques. Il peut provoquer un dysfonctionnement cellulaire ou la mort chez les mollusques et les crustacés. Ces effets toxiques affectent tous les stades de développement (**Rao et al., 2007 ; Kaiser, 2001**).

III. Generalites sur mollusques bivalves

Les mollusques forment un vaste embranchement monophylétique (**Bourlat *et al.*, 2008**) du règne animal qui renferme toutes les espèces à corps mou. La plupart sont aquatiques, d'eau douce et d'eau salée, d'autre terrestres (les escargots et les limaces) (**Cuvier, 1837**).

Ce phylum renferme huit classes : Caudofoveata, Solenogastres, Monoplacophora, Scaphopoda, Polyplacophora, Gastropoda, Cephalopoda, et Bivalvia (**Haszprunar *et al.*, 2008**).

Outre la dernière classe est nommée aussi, Pelecypoda ou Lamellibranchia, ces espèces se caractérisent par la présence d'une coquille calcaire constituée de deux valves mobiles autour d'une charnière, qui servent à protéger le corps de l'animal qui est désigné en régions trois la tête, le pied et la masse viscérale.

Ils ne possèdent pas d'organes buccaux (radula, bec de perroquet). Pour le broyage ou le broutage de l'herbe. Ce sont essentiellement des microphages ou des zooplanctons. Les fonctions primaires (nutrition, respiration, excrétion) dépendent de l'importance de ce courant qui traverse le l'individu (**Fischer, 1887**). Certains bivalves sont gonochoriques et rejettent leurs gamètes dans le milieu extérieur où a lieu la fécondation (**Turgeon *et al.*, 1998**). Leur cycle de développement est réparti en plusieurs stades : phase de repos sexuelle, phase de développement, phase de maturité, et phase de ponte.

Les bivalves sont présents dans divers environnements aquatiques, tels que les océans, les mers, les lacs et les rivières. Il existe plus de 20 000 espèces de mollusques bivalves réparties dans le monde entier ils vivent soit fixés sur des substrats durs (huîtres, moules), soit enfouis dans la surface des substrats mous (coquille Saint-Jacques, palourde, coque, praire) (**Gouletquer et Heral, 1997**).

1. Anatomie

1.1. Anatomie externe

Les bivalves n'ont ni tête ni queue distincte, un crochet au sommet de la coquille qui définit le bord dorsal de la coquille. La région articulaire correspond au bord dorsal et le bord opposé correspond au bord ventral (**Alessandro, 2006**). Ils possèdent deux siphons, l'un inhalant et ventral (branchial), l'autre exhalant et dorsal (anal) (**Helm *et al.*, 2004**). Ces espèces vivent libres ou fixées, soit par un fil byssal passant dans une encoche du pavillon de la valve, soit par soudure directe sur la région ombilicale de la valve (**Piveteau, 1992**).

La coquille d'un bivalve est constituée de deux valves calcaires reliées entre elles par des ligaments. Elle est généralement symétrique bilatéralement avec la charnière dans le plan sagittal. Elle est constituée de plus de 95 % de la partie minérale par rapport au poids total.

Cette partie est constituée principalement de carbonate de calcium. Ce composé présente deux formes cristallines (dites polymorphes) : la calcite (cristaux rhomboédriques) et l'aragonite (cristaux rhombiques) (**Richardson *et al.*, 1998**). Ainsi, de moins de 5 % de la partie organique (constituant la matrice) (**Jacob *et al.*, 2008**). La coquille est organisée en trois principales couches, une couche interne ou nacrée, une couche intermédiaire ou prismatique qui forme la majeure partie de la coquille et une couche externe brune ou périoste, qui est généralement absente en raison des intempéries.

Les deux valvules sont généralement équiconvexes (isothécales) mais peuvent différer l'une de l'autre en taille et en forme en modifiant la symétrie bilatérale (isothécale). Chaque valve peut être symétrique (valves équilatérales, qui se développent symétriquement de part et d'autre du crochet) ou asymétrique (valves équilatérales) par rapport à un axe passant par le haut de la valve et le milieu du bord opposé. Les décorations des valves varient. Les coquilles peuvent être lisses, striées, nervurées, épineuses, carénées, etc. (**Titlow, 2007**). Elles s'articulent dorsalement autour d'un dispositif de jante formé d'une charnière (constituée d'un certain nombre de dents). Le but des dents est d'empêcher les valves de se déplacer latéralement les unes par rapport aux autres, et les dents peuvent être disposées de différentes manières. Ils font face à des dépressions au niveau des valves opposées qui y sont insérées. Il existe deux types de dents, les dents principales, qui sont les plus proches du crochet, et les dents latérales, qui sont devant les dents principales et éloignées du crochet (**Fig. 1**). Le critère « nombre des dents et leur disposition » sont des clés importantes pour identifier les bivalves (**Barret et Yongo, 1958**).

Une structure élastique très incomplètement calcifiée qui tend à parcourir ses faces antérieure, postérieure et surtout ventrale, ouvrant la coquille au niveau du bord. Ce ligament agit dans cette direction de manière antagoniste contre les muscles adducteurs attachés aux surfaces internes des deux valves, qui ferment activement la coque par contraction (**Domingo et Jaume, 1998**). L'emplacement des muscles est souvent clairement visible à l'intérieur de la valvule vide, car ils laissent une cicatrice circulaire ou ovale. Près de la charnière du boîtier se trouve la verrière, une saillie ronde et noueuse. Il s'agit de la partie la plus ancienne de la coque, qui s'étend ensuite sur le bord de l'autre côté.

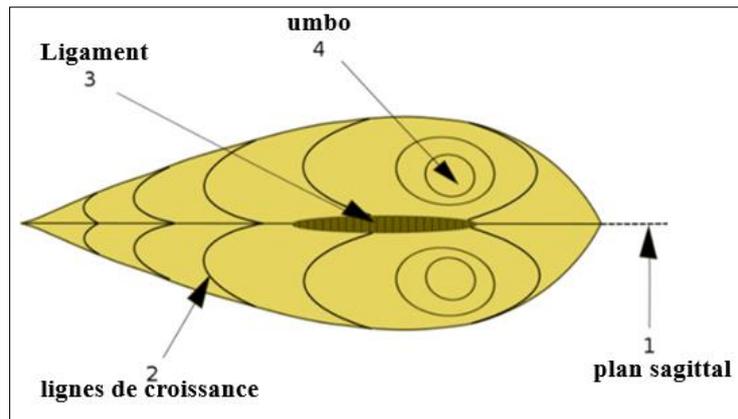


Figure 1. Principaux constituants d'une coquille de bivalve

1.2. Anatomie interne

Les bivalves n'ont pas de tête ni de radula (structures semblables à des dents utilisées pour gratter les surfaces). Leur anatomie interne comprend les éléments suivants :

- **Manteau**

Chez tous les bivalves, le manteau forme une fine pellicule qui recouvre le corps de l'animal et forme des lobes. Ils sécrètent des valves et l'apex de leurs crêtes sécrète un ensemble charnière composé de ligaments, de fils de byssal et de dents (**Brian, 2012**). Ces deux lobes fusionnent avec les viscères dans la région dorsale et définissent la cavité corticale cérébrale sur la face ventrale de l'animal (**Shafee, 1999**).

À l'intérieur de la valve vide, nous pouvons voir une ligne brillante parallèle au bord extérieur de la coquille, qui relie normalement les muscles adducteurs. L'existence de cette ligne (appelée ligne tégumentaire) est attribuée à la présence d'une rangée étroite et continue de minuscules muscles rétracteurs du manteau parallèles au bord de la coquille du bivalve. La fonction de ces petits muscles est de tirer le bord libre du manteau hors de danger si nécessaire, en cas de tentative mineure de prédation. Les bords du manteau peuvent être pigmentés ou comporter des tentacules ou des yeux (**Lovatelli, 2006**). Cette bordure est fortement innervée et possède des ganglions sensoriels. Il déclenche la fermeture de l'enceinte lorsque les conditions environnementales sont défavorables ou dangereuses. Il joue également un rôle dans la respiration des animaux, dans le stockage des réserves animales sous forme de glycogène et de lipides, dans la dissémination des gamètes ou encore dans l'alimentation par tri préalable des particules qui y pénètrent (**Grizel et Auffret, 2003**).

Chez certains bivalves, en particulier ceux qui vivent dans les sédiments du fond marin, le manteau forme deux siphons à l'arrière de la coquille à travers lesquels l'eau est aspirée et expulsée. Cela permet aux animaux de respirer et de se nourrir de particules en suspension, tout en excréant des déchets métaboliques et en se reproduisant. La plupart des bivalves dotés d'un siphon sont capables de le rétracter dans leur coquille. Ils disposent alors d'un espace en forme de poche dans lequel viendra s'insérer le siphon lorsqu'il sera rétracté, cet espace est visible à l'intérieur de la valve sous la forme d'un évidement au niveau de la ligne du cortex cérébral, appelée sinus palléal (Wells, 1998).

▪ Muscles adducteurs

Le muscle principal des bivalves est le muscle adducteur, qui comporte généralement deux morceaux, comme les moules et les palourdes, avec des muscles antérieurs et postérieurs, mais chez certaines espèces, le muscle antérieur peut être réduit ou même disparaître (Lovatelli, 2006). Il existe également des espèces qui possèdent trois muscles adducteurs (Shafee, 1999).

Ces muscles puissants relient les deux valves pour fermer la coquille. Ils sont à l'opposé des ligaments, qui écartent la valvule. Les muscles adducteurs sont constitués de deux types de fibres musculaires, les fibres musculaires striées utilisées pour les mouvements rapides (pour s'échapper lorsqu'on est menacé par un prédateur) et les fibres musculaires lisses utilisées pour exercer une force prolongée dans le temps et maintenir la coquille fermée. La fermeture de la coquille est un phénomène actif assuré par un muscle adducteur (espèce unique) ou deux (espèces binaires comme les palourdes et les moules).

L'impression musculaire antérieur, souvent plus petit, est situé sous la bouche. La sensation musculaire postérieure, souvent plus développée, est située sous l'anus. Parmi les autres muscles bivalves, certains soutiennent le manteau et le relient à la coquille. Ils laissent une cicatrice en forme d'arc à l'intérieur de la valve vide, la ligne palléale. Une paire de muscles rapporteur et écarteur du pied permettent à cet organe de bouger. Chez certains bivalves, comme les huîtres et les pétoncles, ces muscles sont absents et les animaux sont incapables de bouger (Fig. 2).

Une indentation du manteau à l'intérieur de l'une des deux valvules est appelée une indentation membraneuse. Lorsque les indentations musculaires sur les coquilles sont égales, le bivalve est dit homomyaire ou isomyaire ; quand elles sont inégales, il est dit hétéromyaire ou anisomyaire (Foucault *et al.*, 2014). Incapables de redresser leurs pattes. Enfin, d'autres paires de muscles contrôlent les siphons et le byssus (Wells, 1998).

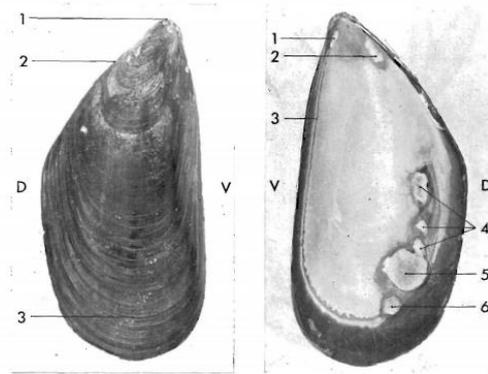


Figure 2. Les différentes empreintes musculaires sur la valve de *Mytilus galloprovincialis* (à droite)

1 : muscle adducteur antérieur, 2 : muscle rétracteur antérieur du pied, 3 : impression palléale, 4 : muscles rétracteurs postérieurs du pied et du byssus, 5 : muscle adducteur postérieur, 6 : muscle du siphon anal.

▪ Pied et byssus

Le pied est un organe musculaire situé à la base de la masse viscérale des bivalves. Il peut être utilisé pour le transport de jeunes, mais rarement pour des adultes. Il est le plus souvent utilisé pour enterrer les animaux et est particulièrement solide et bien développé pour les bivalves qui vivent dans le substrat. Pour ce faire, les pattes dépassent entre les deux moitiés du pelage de l'animal et s'enfoncent légèrement dans le sable. Le sable contracte alors ses muscles, ce qui fait que les bivalves suivent leurs pattes et coulent au fond de la mer. C'est très rudimentaire pour une espèce qui vit en eau libre. Au milieu du pied se trouve la glande de byssus, qui sécrète du byssus. Ces fils élastiques permettent à l'animal de s'attacher au substrat (**Lovatelli, 2006**). Un assemblage de quinone et de kératine donnant une cuticule externe riche en tyrosine (appelé aussi dopa, un acide aminé particulier très adhésif) qui se combine aux ions fer pour former un complexe très résistant à l'usure et doté de fortes capacités d'allongement (**Harrington et al., 2010**).

▪ Système nerveux et organe des sens

Le comportement sédentaire des bivalves fait que le développement de leur système nerveux est moins complexe que celui de la plupart des autres mollusques. Ces animaux n'ont pas de cerveau et leur système nerveux est principalement composé d'un réseau neuronal et de trois paires de ganglions (Les ganglions cérébraux, les ganglions pédieux et les ganglions

viscéraux) (**Helm et al., 2004**) et des ganglions lymphatiques appariés. Presque tous les bivalves les plus primitifs possèdent deux ganglions cérébropleuraux de chaque côté de l'œsophage. Les ganglions cérébraux contrôlent les organes des sens, tandis que les ganglions pleuraux se connectent aux nerfs de la cavité du manteau. Le ganglion du pied, qui contrôle le pied, est situé à sa base et le ganglion viscéral est situé sous les muscles adducteurs postérieurs, qui peuvent être assez gros pour les bivalves qui bougent en nageant. Ces ganglions sont reliés aux ganglions cérébropleuraux par des axones. Les bivalves dotés de longs siphons peuvent également avoir des ganglions spécialisés pour les contrôler (**Alfred, 2002**).

Les organes sensoriels des bivalves sont peu développés et sont pour la plupart situés au bord postérieur du manteau. Il s'agit généralement de mécanorécepteurs ou de chimiorécepteurs, qui analysent l'eau et sont sensibles au toucher. Ils se trouvent généralement près des siphons, mais chez certaines espèces, ils tapissent toute la cavité du manteau (**Brian, 2012**). La cellule olfactive est un groupe de cellules sensorielles situées sous le muscle adducteur postérieur qui permet à l'animal d'analyser l'eau et de mesurer sa turbidité, mais elle n'est peut-être pas homologue à la structure du même nom trouvée chez les escargots et les limaces (**Brian, 2012**). Les stéatocystes permettent aux bivalves de détecter et de corriger leur orientation. Chaque statocyste contient un petit sac bordé de cils sensoriels qui détectent le mouvement des minéraux (statolithes) par gravité (**Bourquin, 2000 ; Balaban et al., 2011**). Chez les Paranomidae, le siphon d'aspiration est entouré de tentacules sensibles aux vibrations, permettant à ces animaux de détecter leurs proies (**Allen et Rhona, 1981**).

De nombreux bivalves n'ont pas de yeux, mais certains membres de la superfamille Arcoidea, Limopsoidea, Mytiloidea, Anomioidea, Ostreoidea et Limoidea ont des yeux simples au bord du manteau, constitués d'un groupe de photocellules, de sensilles et d'une lentille (**Brian, 2012**). Tous les bivalves possèdent des cellules sensibles à la lumière qui leur permettent de détecter les ombres tombant sur l'animal (**Alfred, 2002**).

▪ **Circulation et respiration**

Les bivalves ont un système circulatoire ouvert simplifié, mais difficile à localiser et les organes baignent dans l'hémolymphe. Le cœur possède trois ventricules : deux oreillettes qui reçoivent le sang des branchies et un ventricule (**Grizel et Auffret, 2003**). Les ventricules sont musculaires et pompent l'hémolymphe vers l'aorte puis vers le reste du corps. Il pompe lentement à un rythme de 0,2 à 30 fois par minute (**Hickman et al., 2008**). Certains bivalves ont une aorte, mais la plupart ont une deuxième aorte, généralement plus petite, qui dessert la région arrière de l'animal (**Robert et al., 1991**).

L'oxygène est absorbé dans l'hémolymphe au niveau des branchies, qui constituent la surface principale du système respiratoire. Les branchies sont suspendues dans la cavité du manteau et la paroi de la cavité du manteau et ses capillaires forment une surface respiratoire secondaire. Chez les espèces sans branchies, comme celles de la sous-classe Anomalie, la paroi interne de la cavité du manteau est le seul organe impliqué dans la respiration. Les bivalves sont adaptés aux environnements de marée et peuvent survivre des heures hors de l'eau en fermant hermétiquement leur coquille. Certaines espèces d'eau douce, lorsqu'elles sont exposées à l'air, ont leur coquille légèrement ouverte pour permettre les échanges gazeux (**Brian, 2012**).

L'hémolymphe est généralement dépourvue de pigments respiratoires, bien que l'on sache que les membres des familles des Archidae et des Sauridae possèdent de l'hémoglobine dissoute directement dans le sérum (**Bourquin, 2000**). Dans le genre carnivore *Poromya*, l'hémolymphe possède des amibocytes rouges contenant de l'hémoglobine (**Vaughan, 2008**).

▪ Appareil digestif

Chez la plupart des bivalves non fouisseurs, l'eau est aspirée dans la coquille par la surface ventrale postérieure de l'animal, passe à travers les branchies, puis se replie pour sortir au-dessus du site d'entrée. Chez les espèces fouisseuses, il peut y avoir deux siphons allongés et rétractables qui atteignent la surface du fond marin, l'un pour aspirer l'eau de mer et l'autre pour l'exhaler. Les branchies des bivalves filtreurs, appelées cténidies, se sont spécialisées pour améliorer leur capacité à capturer la nourriture (**Alessandro, 2006**).

Le tube digestif des bivalves se compose généralement d'un minuscule œsophage, d'un estomac et d'intestins. L'hépatopancréas entoure l'estomac et sécrète des enzymes pour digérer les aliments (**Grizel et Auffret, 2003**), mais contient également des cellules capables d'engloutir les particules de nourriture et de les digérer de manière intracellulaire. Chez les bivalves filtreurs, l'estomac est relié à une poche tubulaire d'où s'écoule un bâton de mucus solidifié, appelé « stylo de cristal », apparaît et s'étend dans l'estomac (**Alessandro, 2006**). Les cils du sac font tourner le stylet, font circuler un flux de mucus contenant les aliments pris par la bouche et mélangent le contenu de l'estomac. Ce mouvement de rotation constant pousse les particules de nourriture vers l'arrière de l'estomac, où elles sont triées, les particules plus petites étant dirigées vers les glandes digestives et les particules plus lourdes vers les intestins (**Robert et al., 1991**). L'intestin, très tortueux, dirige les déchets vers le rectum, où ils sont expulsés sous forme d'excréments solides par le jet d'eau expiré par l'anus. La nourriture et la digestion sont basées sur les cycles des marées (**Brian, 2012**).

Les bivalves carnivores possèdent une très petite sonde et un gésier chitineux qui les aident à broyer la nourriture en amont de leur estomac pour faciliter la digestion. Sinon, leurs intestins sont similaires à ceux des bivalves filtreurs (**Bourquin, 2000**).

▪ **Système urogénital**

Les bivalves sont généralement hermaphrodites, avec des individus mâles et femelles (le sexe peut parfois être identifié par la couleur des gonades) (**Choquet, 1970**). De manière générale, les organes reproducteurs des bivalves sont constitués de paires de gonades acineuses (**Alessandro, 2006**). Chez certaines espèces (par exemple les Scallopidae), la gonade forme un organe très distinct, mais chez d'autres (par exemple les Oysteridae), la gonade est indifférenciée et entoure la glande digestive. Il se trouve alors sous l'épithélium du pelage et est entouré de tissu conjonctif (**Grizel et Auffret, 2003**). On peut même facilement identifier les mâles et les femelles car les gonades des premiers sont blanches et celles des secondes sont rouges.

Comme la plupart des autres mollusques, l'organe excréteur des bivalves est une paire de reins. Chacun se compose d'un long canal glandulaire qui mène à une cavité corporelle située sous le cœur et à une vessie qui stocke l'urine. Il existe également des glandes péricardiques, qui agissent soit comme des extensions des oreillettes, soit sont attachées au péricarde et constituent des organes de filtrage supplémentaires. Les déchets métaboliques sont excrétés par la vessie à travers une paire d'ouvertures situées près de l'avant de la partie supérieure de la cavité du manteau, où ils rejoignent le flux d'eau expiré (**Brian, 2012**).

2. Alimentation

La plupart des bivalves se nourrissent en filtrant l'eau (**González et Brüggmann, 1991**) et par la prise d'aliments à travers ce flux. Essentiellement, du phytoplancton, de particules organiques comme des fragments d'animaux morts et de micro-organismes vivants (bactéries et picohétérotrophes) (**Pernet et al., 2012**). Ils capturent les nutriments de l'eau à l'aide de branchies appelées cténidies. Ces branchies jouent un rôle important dans l'alimentation des bivalves.

3. Reproduction

La reproduction implique généralement un gonochorisme (les sexes sont séparés), bien que quelques cas d'hermaphrodisme soient connus. Les gonades sont situées près de l'intestin

et s'ouvrent dans des pores séparés dans la cavité rénale ou du manteau. Ces organes possèdent une structure acineuse, paires (**Robert *et al.*, 1991 ; Lovatelli, 2006**).

Le processus de reproduction commence chez les coquillages à la maturité sexuelle où les bivalves atteignent la maturité sexuelle à un certain stade de leur vie, qui peut varier en fonction de l'espèce et des conditions environnementales dès la libération des gamètes. Les bivalves libèrent leurs gamètes (ovules et spermatozoïdes) dans l'eau.

Les bivalves se reproduisent par fécondation externe. Une fois fécondés, les œufs se transforment en larves qui nagent librement et se nourrissent de plancton, Les embryons se développent en larves, qui peuvent avoir différentes formes et stratégies de vie selon l'espèce de bivalve. Les larves peuvent être planctoniques et se disperser dans l'eau avant de se fixer et de se transformer en juvéniles. Ils continuent à se développer, à croître et à mûrir jusqu'à ce qu'ils atteignent à leur tour la maturité sexuelle et participent au cycle reproductif pour assurer la continuité de l'espèce (**Benomar *et al.*, 2006**). La reproduction des bivalves peut être influencée par des facteurs tels que la température de l'eau, la disponibilité des nutriments et d'autres conditions environnementales.

4. Mortalités

Les bivalves peuvent se mourir à différents stades larvaires, juvéniles ou adultes. Les mollusques bivalves sont très sensibles aux changements environnementaux, tels que les fluctuations de température, les changements de salinité et de niveaux d'oxygène, ou à des facteurs biologiques, tels que les bactéries et les virus. Des facteurs physiques peuvent entraîner une grave mortalité chez ces espèces au cours de leur croissance (**Henri et Michel, 2003**). La pollution provenant de sources telles que les émissions industrielles, le ruissellement agricole et les déversements de pétrole peut nuire les êtres vivants aquatiques (**Rittschof et McClellan-Green, 2005**).

5. Description de l'espèce *Perna perna*

La moule brune *Perna perna* (**Linnaeus, 1758**) est un mollusque bivalve caractérisé par une coquille à deux valves « bivalves » permettant la sauvegarde de la muqueuse, Sa couleur extérieure est brun-noir et sa couleur intérieure est blanche et cicatrices musculaires évidentes. Les moules sont facilement reconnaissables à leur couleur brune, mais leur caractéristique distinctive est la « cicatrice conjonctive postérieure fendue de la moule ». Son byssus est plus résistant que celui de *M. galloprovincialis* et il est plus résistant chez les moules solitaires que chez celles venant des moulières naturelles, probablement en raison de fils de byssus plus nombreux et plus épais (**Zardi et al., 2006**). Le phytoplancton et la matière organique en suspension fournit de la nourriture à ce mollusque édenté. L'espèce était le sujet de plusieurs études (**Bayne, 1976 ; Lubet, 1959 ; Lubet et Aloui, 1987**). Ce mollusque marin et sessile est l'un des organismes de test les plus recommandés (indicateurs biologiques) pour surveillance biologique de la pollution marine. La moule brune peut également être confondue avec l'espèce brun verdâtre plus célèbre *Perna viridis*, car sa couleur et la forme de sa coquille peuvent changer en fonction des conditions environnementales.

6. Biotope

La moule brune *Perna perna* est une espèce qui colonise naturellement les zones rocheuses côtières dans les régions tropicales et subtropicales. Son habitat de prédilection se trouve sur les rivages rocheux, où elle peut former des bancs denses à la surface des rochers. Les moules se trouvent principalement prospère dans une variété d'habitats le long des zones côtières. Ces moules s'attachent généralement à des substrats durs tels que des roches, des pilotis et d'autres structures à l'aide de fils de byssal. Ils préfèrent les zones à débit d'eau modéré pour apporter de la nourriture et de l'oxygène tout en éliminant les déchets. En termes de conditions environnementales, la moule brune tolère une large gamme de températures, de 10°C à 30°C, ainsi qu'une salinité variant de 15 à 50 ppt. Cela lui permet de coloniser des zones côtières très diverses, depuis les milieux tropicaux jusqu'aux zones tempérées plus fraîches. *Perna perna* se trouve couramment dans les zones intertidales, mais peut également habiter les zones subtidales jusqu'à des profondeurs d'environ 20 mètres. Les conditions de vie sont compliquées dans ce lieu qui se trouve fréquemment en face de la mer. Les côtes rocheuses sont enrichies par différentes chaînes alimentaires, telles que des ceintures végétales et animales qui forment des communautés juxtaposées et interconnectées, formant ainsi un réseau trophique intégré et produisant du plancton apporté par les eaux marines (**Gosling, 2003**).

7. Taxonomie

Perna perna appartient aux unités systématiques suivantes :

Embranchement : Mollusques

Classe : Bivalves

Ordre : Filibranche

Sous famille : Mytiloidea

Famille : Mytilidae

Genre : *Perna*

Espèce : *Perna perna* (Linnaeus, 1758).

8. La morphologie externe

La coquille est formée de deux valves ovales et triangulaire, de taille égale et de couleur brunâtre. Elle assure la protection et la fermeture hermétique lorsque l'animal est rétracté à l'intérieur. Une zone appelée charnière se situe dorsalement de la coquille, lieu d'articulation des deux valves. La ligne palléale est la partie de la coque intérieure où les bords du manteau sont attachés, ce manteau violacé au bord typiquement pourpre. Les sécrétions de ce dernier servent à construire par bio-minéralisation la coquille (Waite, 1992).

La coquille est protégée contre les acides dissous dans l'eau grâce à une couche extérieure sombre et fine (péριοstracum). La conchyoline est une protéine qui est similaire à la chitine présente dans la cuticule des insectes. Sous la couche extérieure se trouve une couche plus épaisse (ostracum), constituée de cristaux prismatiques de carbonate de calcium (calcite) qui sont insérés dans un réseau protéinique (Cahen, 2005) (Fig. 3).

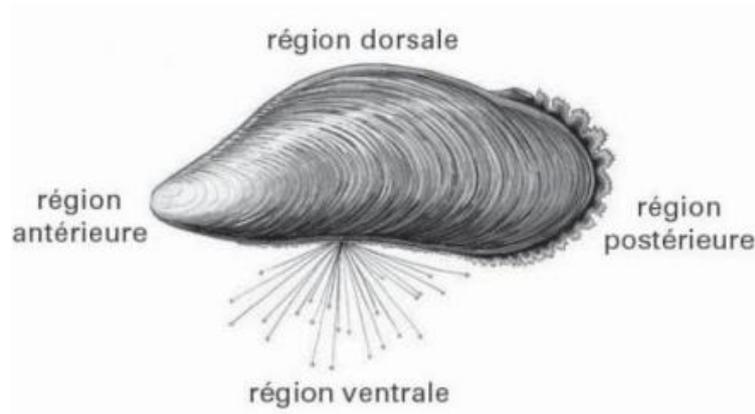


Figure 3: Morphologie externe de la moule *P. perna*. (Deconinck, 1971).

9. Morphologie interne

La moule possède un corps mou entouré du manteau, composé de deux lobes soudés dorsalement sauf au niveau du siphon exhalant et libres ventralement, ils délimitent alors la cavité palléale, et son rôle principal est d'assurer la formation de la coquille. Le pied est une saillie musculaire d'une grande mobilité qui contient la glande byssogène. Le byssus, de nature protéique, est constitué de nombreux filaments très résistants. Le cœur est situé sur la face dorsale, grâce à ses contractions régulières, propulse l'hémolymphe contient des amibocytes, cellules à très grand pouvoir phagocytaire ainsi qu'un rôle digestif. Les branchies, organes de la respiration, assurant la survie par la rétention des particules en suspension qui seront convoyées vers les palpes branchiaux et la bouche. Cette ouverture est située dans la partie antérieure du corps, dont les lèvres se continuent par deux paires de palpes labiaux. L'œsophage est très court et débouche sur l'estomac dont partent les diverticules digestifs (hépatopancréas). L'intestin est relié à l'estomac et se termine par le rectum qui traverse le ventricule du cœur. Le système excréteur comprend deux reins qui communiquent à la fois avec la cavité péricardique et la cavité palléale. L'anus est situé près du siphon exhalant (**Fig. 4**).

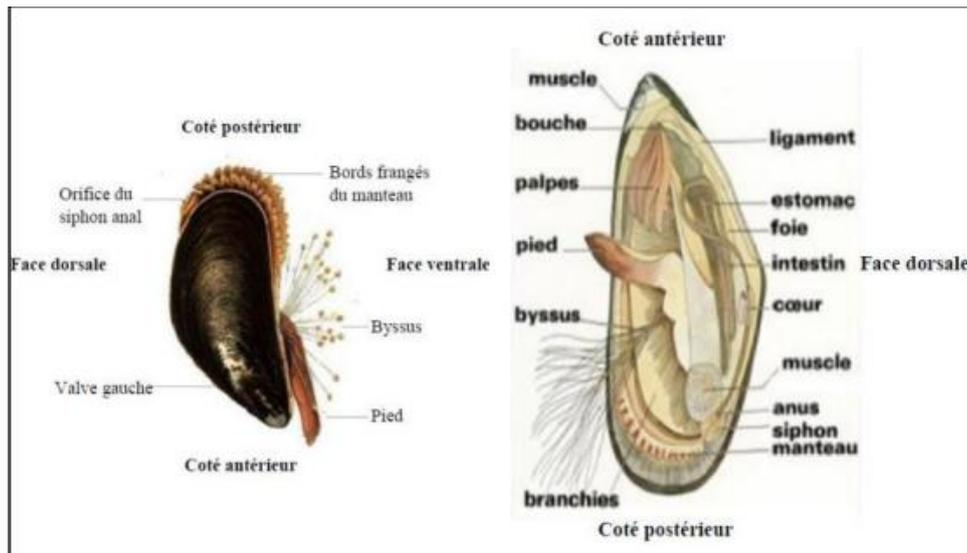


Figure 4. Anatomie interne et externe de la moule *perna perna* (Khelil, 2007 ; CRC, 2010).

10. Physiologie

Les moules sont des espèces très résistants, solidement fixés et bien protégés par leur coquille, ils assurent autant de fonctions vitales :

▪ Appareil digestif

Le système digestif est constitué de la bouche située à l'avant du corps, un oesophage très court qui se termine dans l'estomac d'où partent des canaux. Ces derniers se terminent par des diverticules digestifs qui entourent le foie (Hépatopancréas) d'une masse brunâtre (Gosling, 1992). Le rectum se termine par la fusion de l'intestin dans sa partie antérieure avec le caecum du stilet. Situé près du siphon exhalant, l'anus se trouve sous le muscle adducteur postérieur (Bachelot, 2010).

▪ Appareil branchial

Les branchies jouent un rôle essentiel dans la respiration de nombreux animaux aquatiques qui extraient l'oxygène de l'eau. Les branchies de l'appareil respiratoire flottent dans la cavité palléale et sont reliées chacune à la masse viscérale par l'axe branchial. Chaque branchie présente une forme de "W" lors de la coupe, avec chaque "V" formé par un feuillet direct qui descend de l'axe branchial et se replie au niveau du sillon marginal pour former le feuillet réfléchi avec son sillon dorsal. Le filament est le composant fondamental de chaque feuillet. Chaque fil est placé en série, en parallèle l'un avec l'autre. Plusieurs fonctions sont accomplies

par ces organes : l'hématose du sang, la capture de particules alimentaires (**Barillé, 1994**), l'absorption de particules nutritives et de matières organiques dissoutes (**Manahan et al., 1982**).

- **Appareil excréteur**

Deux reins sont présents chez la moule, situés de chaque côté de la bosse de polichinelle, près du péricarde. Chaque rein commence par un pavillon cilié appelé néphrostome, qui se trouve dans le péricarde. Ensuite, le tube néphridien se dilate en une poche à paroi avec un épithélium sécréteur (**Bachelot, 2010**). Les reins (néphridies) sont responsables de l'excrétion des déchets de l'hémolymphe vers la cavité palléale. Le courant d'eau exhalant les rejette ensuite dans l'environnement de l'animal (**Cahen, 2005**).

- **Appareil respiratoire**

Les branchies sont utilisées pour les échanges d'oxygène. Le siphon inhalant permet à l'eau chargée en oxygène dissout de pénétrer dans la cavité palléale. Avant d'être évacuée par le courant exhalant, elle est filtrée par les filaments des deux paires de branchies lamelleuses.

L'oxygène ainsi absorbé pénètre dans l'hémolymphe et est distribué dans tout l'organisme.

Quand le moule est exposé à l'air libre, il ferme sa coquille et commence à respirer anaérobiquement (comme certains organismes le font en l'absence d'oxygène) (**Cahen, 2005**).

- **Le système nerveux**

On retrouve des cellules nerveuses sur le bord du manteau qui sont sensibles à la température, aux substances chimiques et à la lumière (**Cahen, 2005**). On retrouve trois paires de ganglions nerveux sur la tête, le pied et les viscères (**Villeneuve et Desire, 1965**).

- **Appareil circulatoire**

Elle est plutôt basique. Il y a un cœur dorsal (enveloppé par le péricarde) qui est constitué de deux oreillettes latérales et d'un ventricule. La circulation de l'hémolymphe, qui est un mélange de sang et de lymphes, se fait dans deux aortes et est répartie dans tout le corps grâce à un réseau de vaisseaux sanguins (**Cahen, 2005**). Les lacunes sont créées par ce système artériel, ce qui entraîne des espaces libres sans parois. Le sang d'une moule présente une teinte bleutée en raison de la présence d'un pigment contenant beaucoup de cuivre, l'hémocyanine. Les artères transportent le sang vers tous les organes en utilisant le courant sanguin généré par le cœur (14 à 18 battements par minute). Les veines assurent la circulation sanguine à travers les glandes de Bojanus, qui jouent le rôle de reins. Le cœur est constitué de deux cavités (un ventricule

grand et une petite oreillette), qui se trouvent près du muscle adducteur dans une enveloppe appelée le péricarde. Il persiste à frapper même lorsque la moule est ouverte (**Gosling, 1992**).

- **Appareil locomoteur**

Grâce à un pied en forme de languette, les moules se déplacent sur le substrat en utilisant des muscles. Cet organe de déplacement est également composé d'une glande byssogène qui produit le byssus, des filaments avec une forme de pastille adhésive à leur extrémité, permettant ainsi de fixer les moules sur un support. Après avoir été gardés secrets, les filaments se solidifient lorsqu'ils sont exposés à l'eau de mer (**Bouchard, 2004**).

- **Appareil reproducteur**

Il n'existe aucun organe génital femelle ou mâle chez les moules. Seule une glande séminale, celle-ci située sous le manteau au niveau de la bosse polichinelle, émet les produits génitaux (ovules ou spermatozoïdes). Les gamètes sont introduits dans la cavité palléale, puis dans l'environnement où se déroulera la croissance des larves (**Gosling, 1992**). Les individus sont gonochoriques, d'où les sexes sont séparés. Les gonades se présentent en paire, de couleurs distinctes rouge orangé désignant les femelles et blanc ou jaune pâle indiquant les gonades mâles. Elles sont reliées de manière symétrique, chacune d'une conduite connectée à la cavité palléale et se terminent au niveau de la papille uro-génitale.

IV. Generalites sur le systeme immunitaire

Le système immunitaire des bivalves, y compris les moules, est vulnérable aux stress environnementaux et peut détecter et éliminer différents pathogènes (**Pelletier et Campbell, 2004**). Il s'appuie sur des réponses cellulaires et humorales appropriées, élaborées à l'aide

D'évaluations. Différents paramètres tels que le nombre d'hémocytes, leur aptitude à former des phagocytes, la production d'enzymes et d'intermédiaires réactifs de l'oxygène. Les moules ont démontré une résistance aux conditions environnementales défavorables, même si elles sont attachées aux rochers et exposées à des agents pathogènes et des contaminants, grâce aux caractéristiques de leur système immunitaire inné (**Pipe et al., 1995**). Ce système inclut des obstacles physiques tels que la coque et les muqueuses épithéliales, ainsi que des mécanismes biologiques qui permettent de détecter les microorganismes pathogènes et de déclencher une réponse immunitaire protectrice. Deux systèmes de réponse immunitaire sont connus chez les moules (**Hoebe et al., 2004**) : l'immunité acquise, qui fonctionne à l'aide de mécanismes complexes et de mémoire immunologique, et l'immunité innée, qui implique les cellules immunitaires capables de reconnaître les déterminants antigéniques des micro-organismes. Les cellules et les effecteurs humoraux de l'hémolymphe jouent un rôle crucial dans la lutte contre les micro-organismes envahisseurs (**Mydlarz et al., 2006**).

1. Système immunitaire

Chez la majorité des mollusques, les organes internes sont directement baignés par l'hémolymphe. Le rôle de l'hémolymphe, tout comme celui du sang des vertébrés, est spécifique dans le système de défense (**Fisher, 1986 ; Cheng, 1996 ; Chu, 2000**). L'organisme a principalement des défenses non spécifiques qui reposent sur les activités des hémocytes qui circulent dans les tissus (**Cheng, 1996**) et dans les fluides extrapalléaux entre le manteau et la face interne de la coquille (**Allam et Paillard, 1998**). Malgré l'organisation simple du corps des bivalves, leur cycle de vie est très long et ils sont constamment exposés à divers microbes potentiellement pathogènes ou invasifs. Comme chez tous les invertébrés, cette immunité innée est leur unique système immunitaire et comporte deux actions complémentaires : une action impliquant directement les hémocytes (la défense cellulaire) et une action impliquant des molécules libres (la défense humorale) (**Canesi et al., 2002**).

2. La réponse immunitaire cellulaire

Le système de défense des bivalves utilise ces hémocytes, qui se trouvent aussi bien dans le système circulatoire (vasculaires et sinus hémolymphatiques) que dans les tissus et les organes (glandes digestives, branchies, manteaux, gonades). Il protège le corps de l'animal contre l'action toxique d'une grande variété de xénobiotiques organiques, en limitant leur accumulation cellulaire. L'agent pathogène, dès qu'il envahit le corps, peut être identifié par l'organisme et accueilli par les cellules hémocytaires. La phagocytose est le plus important mécanisme de défense cellulaire chez les mollusques marins, qui est activé par les cellules hémocytaires

2.1. Les hémocytes

Les hémocytes sont des effecteurs de défense contre les microbes chez les mollusques bivalves. Ces cellules immunitaires actives ont la capacité de pénétrer dans les tissus pour atteindre le lieu de l'infection. Elles jouent également un rôle dans différentes fonctions biologiques et physiologiques, comme la réparation de la coquille (**Johnstone et al., 2008 ; Mount et al., 2004**) et le transport des particules nutritives (**Beninger et al., 2003**). Différentes catégories ont été suggérées au cours des dernières années et fréquemment, deux types cellulaires principaux sont décrits : les cellules granulaires et les cellules agranulaires (**Stefano, 1990**). (**Le Foll et al., 2010**) ont distingué trois groupes cellulaires chez *Perna perna* à partir de critères cytochimiques, morphologiques et fonctionnels : des petits basophiles semi-granulés, des hyalinocytes agranulés et des éosinophiles granulocytes plus complexes. Cependant, les origines et les mécanismes de formation des hémocytes chez les mollusques sont mal compris. Certains auteurs pensent que les cellules sanguines résultent de la différenciation des cellules du tissu conjonctif (**Auffret, 1986 ; Cheng, 1996**).

2.2. Fonctions des hémocytes

Les hémocytes jouent un rôle dans la cicatrisation d'une blessure, la reconstruction de la coquille, le transport et la digestion des nutriments, ainsi que dans l'excrétion chez les bivalves (**Cheng, 1996**). Cependant, ils ont également un rôle crucial dans les défenses internes, notamment la phagocytose (**Pipe, 1992 ; Chu, 2000 ; Montagnani, 2002**). Les hémocytes jouent un rôle essentiel dans le système immunitaire des moules en identifiant les motifs moléculaires liés aux pathogènes conservés (PAMP) grâce à des récepteurs de reconnaissance des motifs (PRRs), ainsi que les signaux de danger et les motifs moléculaires liés aux dommages/danger (DAMP) (**Matzinger, 1994**). Après la reconnaissance, ces cellules s'activent par chimiotaxie, encapsulation, activité phagocytaire et libération de radicaux d'oxygène et

d'azote, ainsi que par l'activation de voies de signalisation intracellulaires pour finalement déclencher la production d'effets antimicrobiens (Matzinger, 2002).

2.3. Les mécanismes de défense cellulaire

Les hémocytes ont pour fonction principale de protéger contre les agents infectieux, car elles sont des cellules actives du système immunitaire qui peuvent reconnaître et éliminer les microbes à travers diverses activités cellulaires, en coordination avec les facteurs humoraux, pour répondre aux attaques des envahisseurs. La phagocytose est le principal mécanisme de réponse immunitaire chez les vertébrés comme chez les invertébrés, mais d'autres mécanismes cellulaires peuvent intervenir tels que l'encapsulation et l'apoptose (Fig. 5).

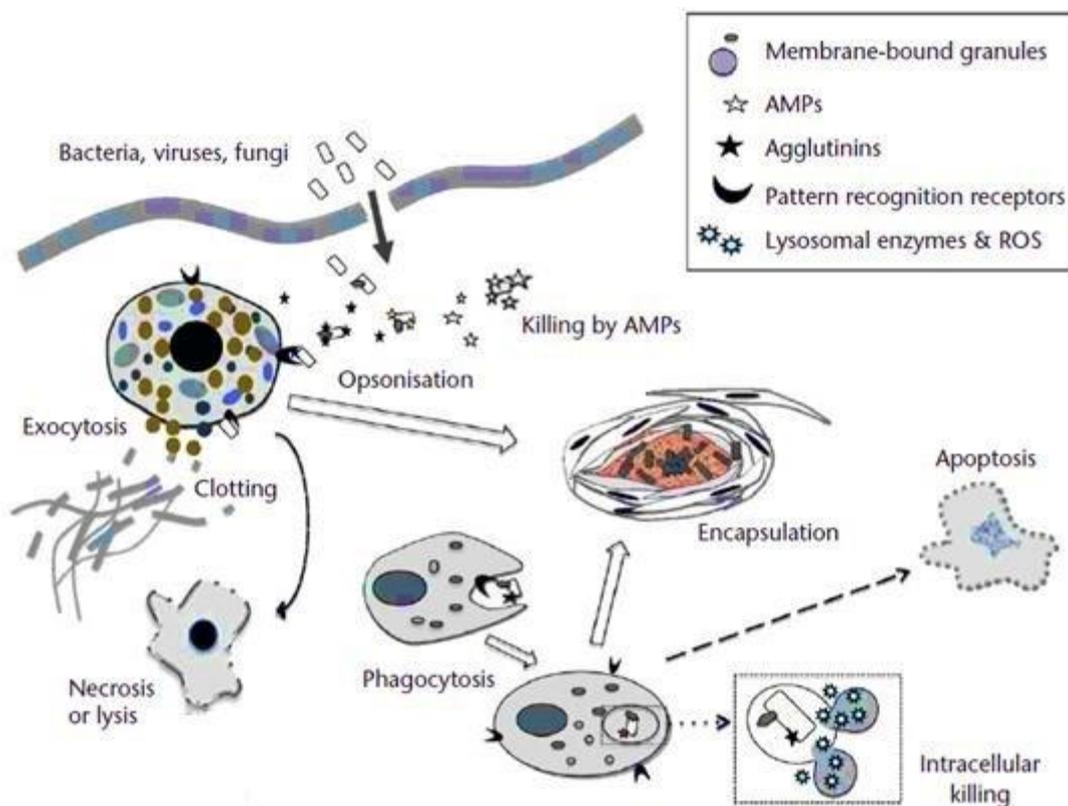


Figure 5. Représentation schématique des activités immunitaires cellulaires des invertébrés après une invasion par des microorganismes d'après (Smith, 2001)

2.4. La phagocytose

La phagocytose consiste à ingérer une ou plusieurs particules étrangères par les cellules circulantes ou infiltrées (Smith, 2001). La réponse immunitaire est essentielle pour elle, mais elle est également impliquée dans le transport des nutriments chez les invertébrés.

Les phagocytes sont les cellules responsables de la phagocytose. On peut distinguer deux catégories : les phagocytes professionnels qui exécutent à temps plein et les phagocytes occasionnels qui ont d'autres fonctions et ne participent au processus qu'en cas de nécessité (**Nakanishi and Shiratsuchi, 2006**). Chez les invertébrés, les phagocytes sont de type et de nombre différents selon les espèces. Les granulocytes éosinophiles sont les principaux responsables de la phagocytose des hémocytes de la moule bleue, avec 42% de cellules contenant 3 billes de latex ou plus après 2 heures de contact in vitro (**Le Foll et al., 2010**). On peut distinguer quatre étapes de la phagocytose.

- La phagocytose débute par la migration des hémocytes vers des particules étrangères, qui sont éliminées par chimiotactisme (**Soudant et al., 2013**).
- Les hémocytes reconnaîtront les particules non-soi par interaction membranaire. Les particules étrangères reconnues amèneront les hémocytes à former des pseudopodes, adhérant ainsi à la particule à phagocyter et l'entourant jusqu'à l'internalisation (**Jia et al., 2015**).
- Une fois phagocytée, cette particule étrangère est séquestrée dans les phagosomes, qui fusionnent ensuite avec les lysosomes pour former des phagolysosomes. Dans ce lysosome, un certain nombre d'effecteurs immunitaires (comme le lysozyme) et une production abondante d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) élimineront la destruction des particules étrangères (**Donaghy et al., 2009**).
- Si la particule étrangère est trop volumineuse pour être phagocytée, le processus d'encapsulation sera établi par les hémocytes (**Fig. 6**).

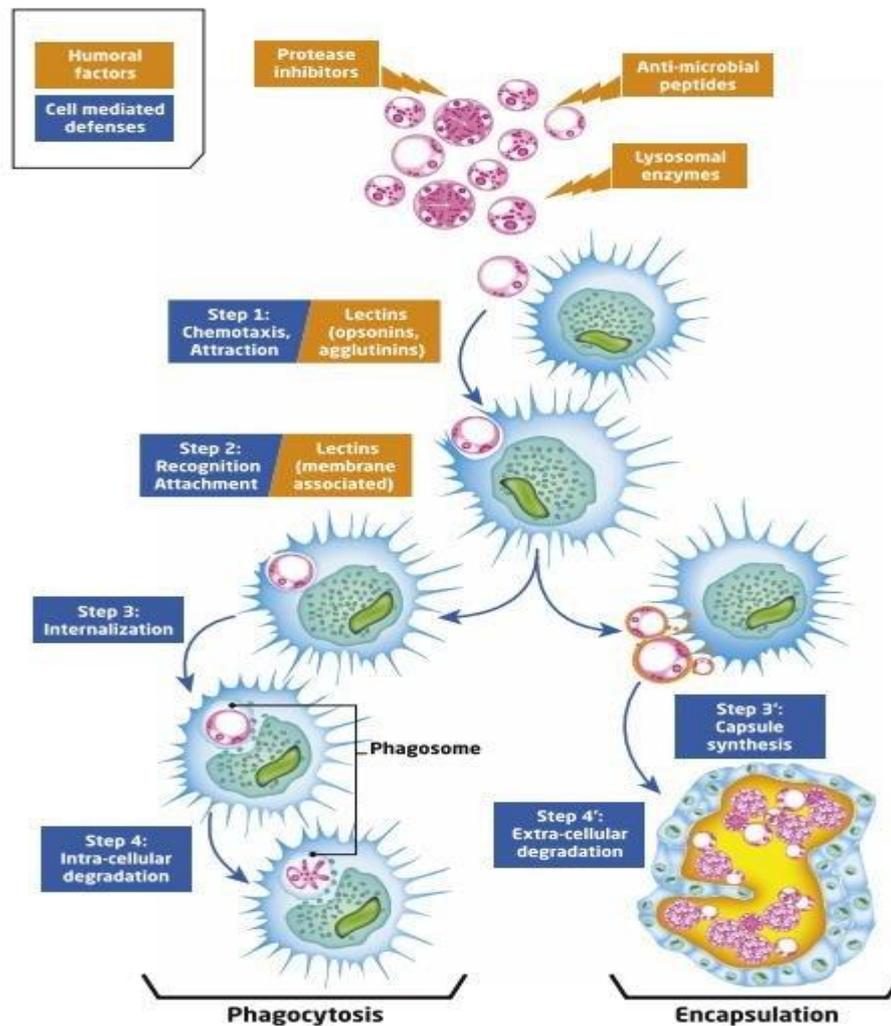


Figure 6. Processus de phagocytose et d'encapsulation des hémocytes (Soudant et al., 2013)

La première étape de l'encapsulation, comme pour la phagocytose, consiste à reconnaître et à fixer les hémocytes à la particule à éliminer. Par la suite, les hémocytes sont divisés en cellules fibroblastiques et forment une capsule fine autour des particules à éliminer (Fisher, 1986). Après avoir entouré ces particules, les hémocytes produisent des enzymes hydrolytiques et protéolytiques ainsi que des espèces réactives de l'oxygène qui les dégradent.

2.5. L'encapsulation

La seconde réaction immunitaire importante des invertébrés contre les microorganismes, en particulier les protozoaires, est l'encapsulation. On la retrouve chez des bivalves tels que la palourde commune ou la palourde japonaise qui sont infectées par toutes les espèces du parasite *Perkinsus* (Montes et al., 1995, 1997). Cependant, les mécanismes moléculaires impliqués demeurent peu étudiés. Ce mécanisme observé chez les bivalves est une tentative de phagocytose interrompue lorsque la cible est trop grande pour être ingérée (Cheng

et Rifkin, 1970). La réponse commence par la libération des molécules d'adhésion par les granulocytes après la détection des particules cibles (Johansson *et al.*, 1995). Cela entraîne la formation de couches concentriques de cellules hémocytaires qui forment une capsule fine autour du parasite (Fig. 6). L'activité de l'enzyme phénoloxydase, qui se trouve à la surface des hémocytes, entraîne la mélanisation de la structure (Söderhäll *et al.*, 1994) et la destruction du parasite par les enzymes lysosomales et les EOR produites par les hémocytes (Soudant *et al.*, 2013).

2.6. La mort cellulaire programmée

La mort cellulaire programmée est une combinaison de processus cellulaires qui, en réponse à certains signaux spécifiques, entraînent l'exécution d'un programme génétique qui entraîne la mort cellulaire. En particulier, elle facilite la destruction des cellules malades ou chimiquement altérées sans libérer les composés cellulaires ou les agents infectieux susceptibles de mettre en danger l'organisme hôte. Une des formes de la mort cellulaire programmée est l'apoptose. Contrairement aux cellules nécrotiques, ce processus exploite l'énergie propre de la cellule et son contrôle génétique. Les cellules apoptotiques connaissent des modifications morphologiques telles que la croissance des membranes et la condensation de la chromatine avec la fragmentation de l'ADN (Kim et Sharma, 2004).

Après la mort des cellules, le contenu de ces dernières est renfermé dans des vésicules appelées corps apoptotiques, qui sont détruits par les phagocytes (Elmore, 2007).

Une des principales réponses à une infection virale est l'apoptose, qui empêche la propagation des pathogènes dans l'organisme (Renault *et al.*, 2000). Divers travaux ont permis de démontrer son existence chez *Ruditapes philippinarum*, *Ostrea edulis* et *Crassostrea gigas* (Lacoste *et al.*, 2002 ; Renault *et al.*, 2000).

3. La réponse immunitaire humorale

Plusieurs études mentionnent la présence de molécules impliquées dans les mécanismes de défense comme le lysozyme, des enzymes lysosomales (Pipe, 1990 ; Pipe, 1990b), des cytokines et lectines (Hughes *et al.*, 1990 ; Beck et Habicht, 1991 ; Hughes *et al.*, 1991) et des peptides antimicrobiens (Mitta *et al.*, 2000a ; Mitta *et al.*, 2000).

3.1. Lysozyme et enzymes lysosomales

Les hémocytes de bivalves contiennent une petite enzyme bactériolytique appelée lysozyme, qui se trouve dans la fraction acellulaire de l'hémolymphe. La liaison β -1,4-glycosidique est hydrolysée par le lysozyme, ce qui modifie les résidus de Nacétylglucosamine et Nacétylmuramique qui sont impliqués dans la couche de peptidoglycanes de la paroi bactérienne des bactéries Gram+. Selon plusieurs recherches, les lysozymes ont également la capacité de détruire les bactéries à Gram+ chez les bivalves (**Xue et al., 2004**).

Différentes espèces de bivalves présentent également des enzymes lysosomales (β -glucuronidase, phosphatase, estérase, peroxydase, aminopeptidase) dans les hémocytes et l'hémolymphe (**Xue et Renault, 2000**).

3.2. Lectines

Les lectines sont des protéines qui sont particulièrement sensibles aux sucres. Les lectines ont la capacité de reconnaître et d'interagir avec les carbohydrates de molécules étrangères, ce qui leur confère un rôle de récepteur ligand (**Mydlarz et al., 2006**).

Il est possible qu'elles jouent un rôle dans les processus d'agglutination et d'opsonisation, en particulier lors de la phagocytose. Elles sont observées chez les mollusques bivalves tels que les moules, les palourdes et les huîtres, dont la majorité présentent une activité antibactérienne (**Pipe, 1990**).

3.3. Cytokines

Les cytokines sont des protéines solubles de petite taille qui transmettent des messages entre les différentes catégories de cellules d'un animal. Elles sont libérées après avoir été en contact avec des substances étrangères par les cellules du système immunitaire, comme les cellules phagocytaires. Les cytokines incluent principalement les interleukines (IL) ainsi que les molécules de la famille "Tumour Necrosis Factor" (**Ottaviani et al., 2000 ; Novas et al., 2004**).

3.4. Les Peptides antimicrobiens (PAMs)

Les peptides antimicrobiens sont des molécules de petite taille (6-50 résidus acides aminés) avec une masse moléculaire allant de 1 à 5 kDa. Ils sont cationiques (avec une charge nette de +2 à +9) et amphiphiles. Ils présentent différentes structures tridimensionnelles, avec la plupart d'entre elles un domaine hydrophobe et une portion hydrophile à leur surface. Cela

leur permet d'interagir de manière intense avec la membrane bactérienne chargée négativement (Wang et Wang, 2004 ; Hancock *et al.*, 2006).

Les cellules sécrétrices peuvent exprimer des peptides antimicrobiens de manière constitutive ou être induites par des infections ou des stimuli inflammatoires. Les PAMs ont principalement une fonction antimicrobienne, mais en plus de cela, ils peuvent également jouer un rôle de médiateurs d'inflammation ou d'influencer la libération de cytokines, la prolifération cellulaire, l'angiogénèse, la cicatrisation et le chimiotactisme. Certains peptides ont un effet antibactérien, mais d'autres ont des propriétés antifongiques, antivirales, antiparasites et même des propriétés contre les protozoaires, voire les cellules cancéreuses (Toke, 2005) (Fig .7).

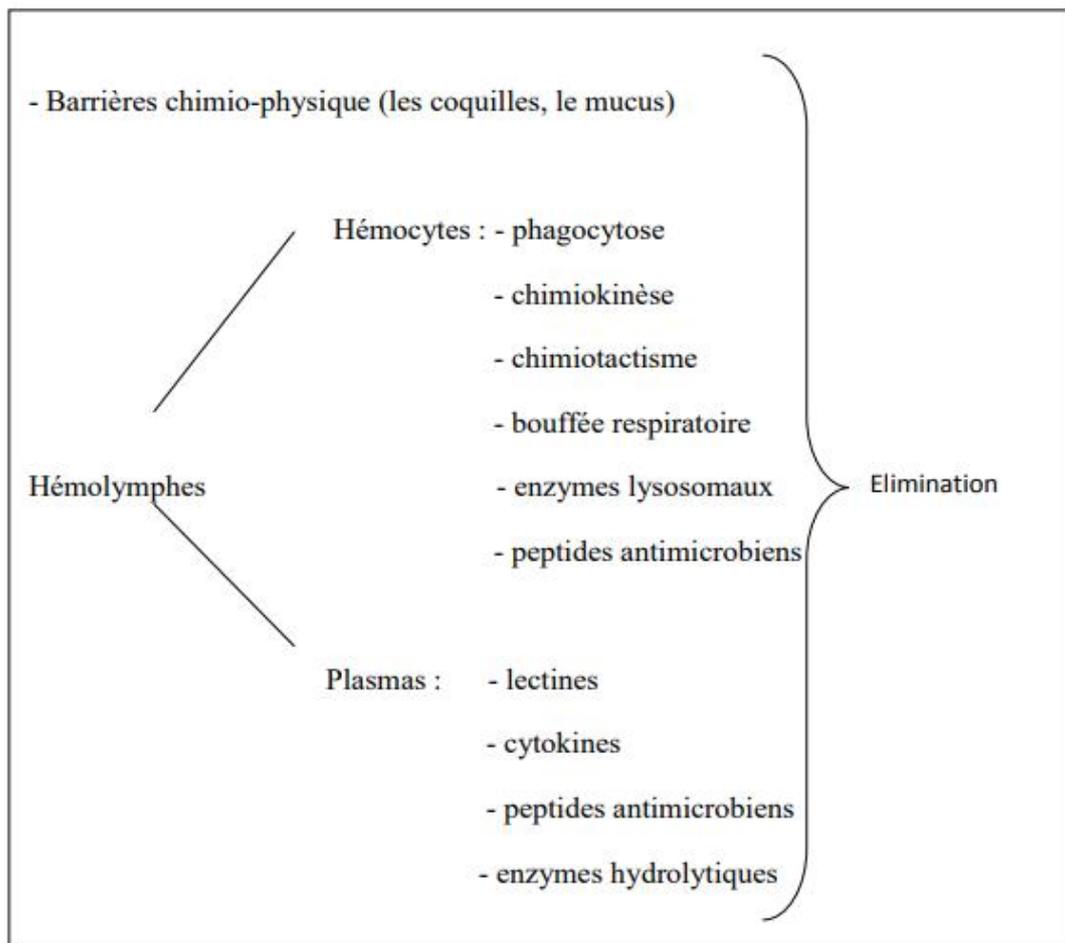


Figure 7. Les systèmes de défense chez les bivalves (Canesi *et al.*, 2002).

4. Facteurs agissant sur ces mécanismes

Peuvent être influencés par différents facteurs. Voici quelques-uns des principaux facteurs qui peuvent affecter ces mécanismes :

- Les mollusques bivalves sont sensibles aux changements de leur environnement, tels que la température, la salinité, la qualité de l'eau, et la pollution. Un stress environnemental excessif peut affaiblir leur système immunitaire et les rendre plus vulnérables aux infections (**Wang et Song, 2014**).
- Les espèces bivalves filtrent activement l'eau pour se nourrir, ce qui les expose à une grande variété de contaminants présents dans l'eau, tels que les métaux lourds, les pesticides et les hydrocarbures. Ces substances peuvent altérer la fonction immunitaire et provoquer des déficits immunitaires (**Regoli et Giuliani, 2014**).
- Les bivalves peuvent être infectés par différents parasites et pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les champignons et les protozoaires. L'interaction peut stimuler la réponse immunitaire, mais une forte charge parasitaire ou une infection généralisée peuvent affaiblir leur système immunitaire (**Carballal et Villalba, 2017**).
- La qualité de l'alimentation de ces espèces peut avoir un impact sur leur système immunitaire. Une alimentation équilibrée et riche en nutriments essentiels peut renforcer leur immunité, tandis qu'une alimentation pauvre peut les rendre plus vulnérables aux infections (**Krause et Fábregas, 2016**).
- La réponse immunitaire des mollusques bivalves peut varier d'une espèce à l'autre et même au sein d'une même espèce en raison de différences génétiques. Certaines populations de ces espèces peuvent être plus résistantes aux infections que d'autres en raison de variations génétiques qui influencent leur système immunitaire (**Sang et al., 2016**).

La composition sanguine peut varier d'une espèce à l'autre, mais elle présente généralement des caractéristiques similaires. Leur sang est composé de plusieurs éléments clés :

- Les hémocytes sont les cellules sanguines principales des mollusques bivalves. Ils jouent un rôle crucial dans la défense immunitaire en participant à la phagocytose, à la production d'enzymes antimicrobiennes, et à la formation de coagulants pour sceller les blessures (**Allam et Raftos, 2015**).
- Le plasma sanguin des bivalves est un liquide jaunâtre qui contient diverses substances, notamment des protéines, des nutriments, des ions, des hormones, et d'autres molécules importantes pour le fonctionnement du corps (**Bayne et Hawkins, 1997**).

- Bien que ces organismes n'ont pas de véritables globules rouges, ils peuvent contenir une forme d'hémoglobine dissoute dans leur plasma. Il est connu que l'hémoglobine est responsable du transport de l'oxygène dans le corps (**Lushchak et Storey, 2005**). Également, le sang des bivalves est riche en métabolites, comme des acides aminés, des sucres, des lipides et des déchets métaboliques, qui sont essentiels et nécessaires au fonctionnement et au métabolisme cellulaire (**Guderley et St-Pierre, 2002**). Il est important de noter que la composition sanguine peut être influencée par divers facteurs, tels que l'âge, l'état de santé, l'alimentation et l'environnement. Des études sur les différentes espèces bivalves pouvant fournir des informations plus détaillées sur leur composition sanguine ont été en cours.

Etude Expérimentale

V. Matériels et méthodes

1. Présentation et choix de la zone d'étude :

Le golfe d'Annaba, également connu sous le nom de la baie d'Annaba, est un massif d'eau de la Méditerranée en Algérie. Le cap de Garde à (7°16'E – 36°68'N) et le cap Rosa à l'est (8°15'E – 36°38'N) sont les deux caps qui le limitent avec une distance de 40 km qui les éloignent.

Il reçoit à travers la canalisation de divers oueds de différents déchets. Oued Mafragh, qui véhicule des éléments riches en composés agricoles, et les Oueds Seybouse et Boudjemaa transportent des matières minérales et organiques de différentes sources (terrestres, agricoles, domestiques et industrielles).

- **Site 1 « El-Hennaya » :**

Le site est situé à l'est du golfe d'Annaba, il est localisé à une position géographique de (latitude 34° 57' 5 N longitude -1° 22' 5 O). Le prélèvement est effectué au niveau d'un escarpement rocheux (**Fig. 8**).



Figure 8. Site d'El-Henaya (**Drif, 2012**).

- **Site 2 « Sidi Salem » :**

Il est situé à mi-distance du golfe. L'embouchure de l'oued Seybouse rejoint la plage de Sidi Salem et draine des déchets du complexe ASMIDAL spécialisé dans la fabrication d'engrais et de produits phytosanitaires (**Fig. 9**).



Figure 9. Site de Sidi Salem (**Drif, 2012**).

2. Présentation et choix de l'espèce étudiée

L'espèce *Perna perna* a été choisie en raison de certains critères, tels que sa sédentarité, sa vaste aire de répartition, sa capacité d'accumuler et de résister aux taux de contamination élevés. En outre, ils sont faciles à manipuler lors des expérimentations au laboratoire et fournissent des réponses physiologiques importantes aux stress environnementaux.

3. Stratégie d'échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé à 6 heures du matin fin avril et début mai 2024. Des conditions climatiques adéquates ont été précisées (température 20 à 22.4 C°, salinité 30.98 psu, oxygène dissous 45.8 % et 3.9 mg/l, pH 7.90, conductivité 47.26 mS/cm) et (température 20 à 22.4 C°, salinité 26.90 psu, oxygène dissous 45.3 % et 3.1 mg/l, pH 7.93, conductivité 41.79 mS/cm) respectivement de Sidi Salem et de l'Hnaya. Les paramètres de l'eau de mer ont été mesurés dans le laboratoire avec un multi-paramètre qui est étalonné avant de faire la mesure. Les profondeurs atteintes au cours des prélèvements sont environ 1,50 m jusqu'à 3m (**Fig.10**).

Une vingtaine de moules de tailles moyennes (5 à 8cm) ont été enlevés manuellement et aléatoirement (sans distinction de sexe) à l'aide d'un couteau du rocher auquel elles sont fixées.

Les individus collectés sont placés dans un porte-manger propre rempli d'eau de mer et transportés au laboratoire pédagogique de l'université de Guelma.

4. Prélèvement de l'hémolymphe

Recueillir un volume de l'hémolymphe du muscle adducteur postérieur à l'aide d'une seringue stérile. Il faut percer la coque du côté dorsal postérieur et introduire la seringue (**Fig.10**). Il est important de revenir au tri du sexe, par désignation de la coloration de la gonade (**Fig.11**). Une couleur orangée a été donnée aux individus femelles et blanchâtre pour les individus mâles. Un nombre de trois prélèvements pour chaque sexe a été effectué.



Figure 10. Effectuation du prélèvement au niveau du muscle adducteur postérieur chez la moule.



Figure 11. Détermination du sexe

5. Technique de la coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG)

La section cellulaire de l'hémolymphe est exploitée afin d'analyser les hémocytes. Ce sont des cellules du système immunitaire présentes chez les invertébrés, circulant dans l'hémolymphe.

5.1. Principe

Les cellules sanguines, y compris les hémocytes, sont souvent visualisées et identifiées au microscope par la coloration MGG (Piaton *et al.*, 2015). Grâce à cette méthode, il est possible de distinguer les diverses catégories d'hémocytes selon leur morphologie, leur taille, leur couleur et leurs structures intracellulaires.

5.2. Réalisation d'un frottis d'hémolymphe

Une goutte d'hémolymphe est placée sur l'extrémité d'une lame de verre propre. L'étalement de la goutte est effectué à l'aide d'une autre lame qui doit être portée inclinée par rapport à la première avec un angle de 45°. Par conséquent, la lame est couverte d'une fine couche cellulaire répartie de manière homogène.

Fixation : Laissez le frottis séché à l'air 1h à 2h (ou séchage par séchoir), immergez la lame dans le méthanol absolu pendant quelques minutes (10 minutes) afin que les cellules se fixent à la lame de verre.

Coloration : Immergez le frottis dans le colorant Giemsa 5% pendant 10 min (Giemsa 5% : 5g poudre de Giemsa dans 100 ml d'eau distillée après agitation 30 min et filtration avec papier filtre).

Ensuite prolonger les frottis dans la solution de May-Grünwald à 5% pendant 5 min (May-Grünwald 5% : 5g poudre de May-Grünwald dans 100 ml d'eau distillée, après une de 30 min et une filtration avec papier filtre).

Rinçage et séchage : Finalement, enlevez délicatement l'excès du colorant porté par la lame du frottis avec de l'eau déionisée et permettez aux frottis de sécher entièrement à l'air libre.

Observation : Le microscope optique a été utilisé pour lire les frottis, avec le grossissement ($\times 1000$). Le champ microscopique a été photographié à l'aide de l'appareil photo du téléphone portable.

Conseils

- Pour éviter les précipités de colorants : Il est important de veiller à bien recouvrir la lame lors de la fixation par le May-Grünwald.

Résultats et Discussion

VI. Resultats

1. Caractérisation des hémocytes

L'observation des frottis colorés avec la coloration May-Granwald Giemsa a constaté l'existence d'une variété de cellules de différents aspects morphologiques. Bien que la présence de cellules isolées, ainsi la formation d'agrégats a été constatée (**Fig. 15. e,f**).

▪ Lecture des frottis des mâles :

L'analyse microscopique a révélé la présence de différents types de cellules morphologiquement distincts :

- **Les granulocytes** se distinguent par-là l'existence de granules particulières dans leur cytoplasme et la présence d'un noyau excentrique ayant une forme minimisée. En fonction de l'intensité de granulation, trois types de granulocytes ont pu être identifiés granulocytes à large granulation, des granulocytes à moyenne granulation et des granulocytes à faible granulation (**Fig.12. e,f**).
- **Les agranulocytes** contiennent un cytoplasme dépourvu de granules et enfermant un petit noyau excentrique (**Fig. 12. c,d**).
- **Les hyalinocytes** sont des cellules peu différenciées et claires à rapport nucléaire/cytoplasmique élevé. Elles sont dépourvues de granules. Ces cellules claires sont dispersées au niveau du frottis, d'une manière isolée ou agglomérée. Ils sont distingués en deux catégories :

Les grandes hyalinocytes (HI) ils sont souvent de grands hémocytes à forme irrégulière, avec des extensions cytoplasmiques développées et des petits noyaux situés à la périphérie (**Fig. 12. a**).

Les petits hyalinocytes (HS) se distinguent des précédents par leur petite taille et un cytoplasme peu abondant dépourvu de granules. En outre, une position centralisée d'un noyau volumineux ovoïde (**Fig. 12. b**).

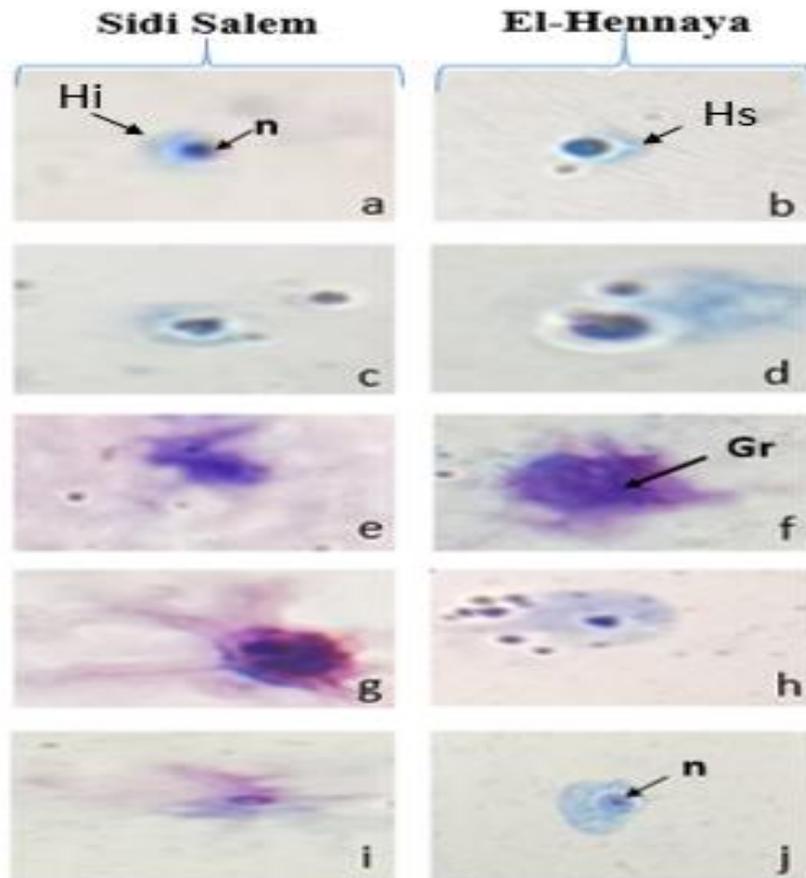


Figure 12. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis des mâles de *P. perna* ((Gr : $\times 1000$, $\times 1600$) ; (a et b) : des hyalinocytes, (c et d) : des agranulocytes. (e et f): des granulocytes, (g et h): semi-granulocytes, (i et j): peu-granulocytes, (Gr : granule ; N : noyau ; Hs : petite hyalinocyte ; Hi : grande ou large hyalinocyte).

▪ **Lecture des frottis femelles :**

L'examen microscopique des frottis femelles a permis de constater la présence des mêmes hémocytes que ceux présents chez les mâles (**Fig. 23**).

Chez les femelles, on a également constaté des agrégations d'hyalinocytes (**Fig. 25. e,f**).

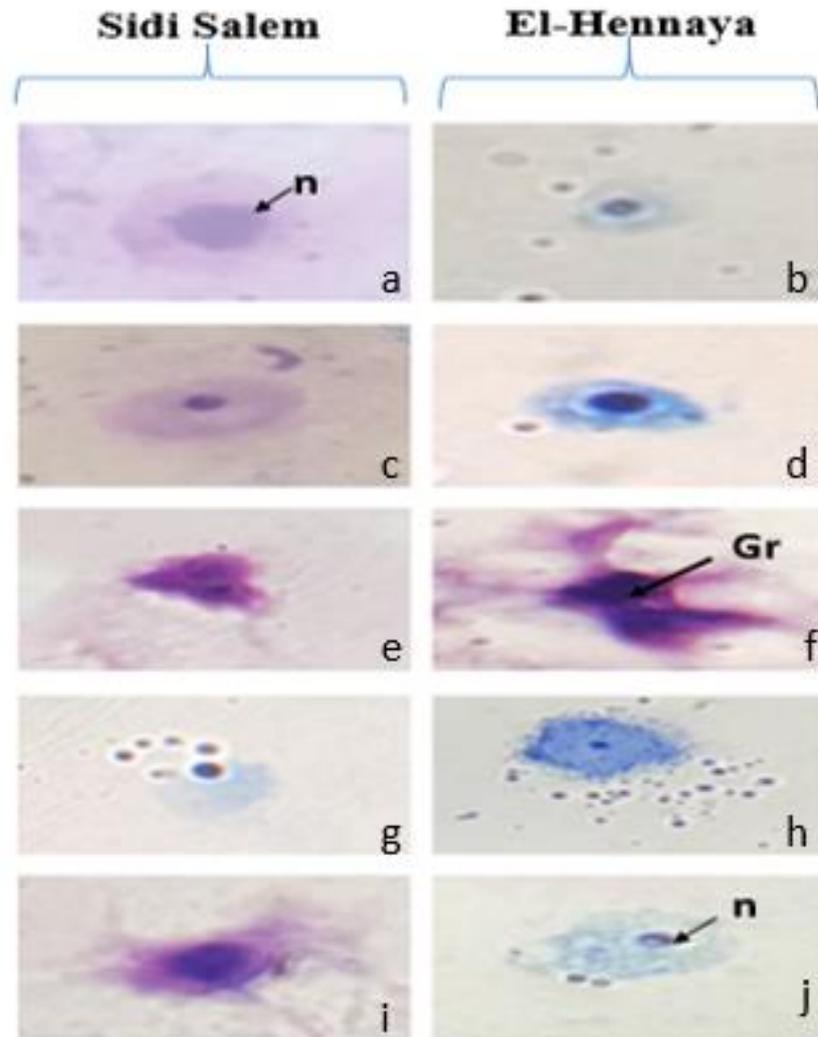


Figure 13. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis des femelles de *P. perna* ((Gr : $\times 1000$, $\times 1600$) ; ; (a et b) : des hyalinocytes ,(c et d): des agranulocytes ,(e et f): des granulocytes, (g et h): semi-granulocytes, (i et j): peu-granulocytes, (Gr : granule ; N : noyau ; Hs : petite hyalinocyte ; Hl : grande ou large hyalinocyte).

2. Détection des malformations

Des dommages cellulaires ont été observées dans certaines cellules, spécialement des fragmentations des noyaux (Binuclé) (**Fig. 14 a,c**).

Changements de forme cellulaire :

- Cellules arrondies perte de la forme typique (étoilée ou ovoïde)
- Cellules allongées ou fusiformes

Variations de taille :

- Cellules plus petites : pouvant refléter un arrêt de croissance ou de division

- Cellules plus grandes : liées à des anomalies de développement (Fig. 14 b,d)

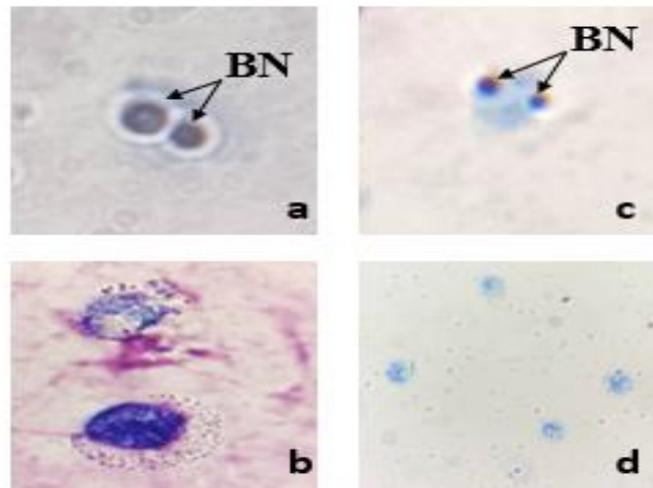


Figure 14. Présentation des frottis de l'espèce *P. perna* (Binuclée (BN) ; (a et c) : des Mn ; (b et d) : cellules altérées).

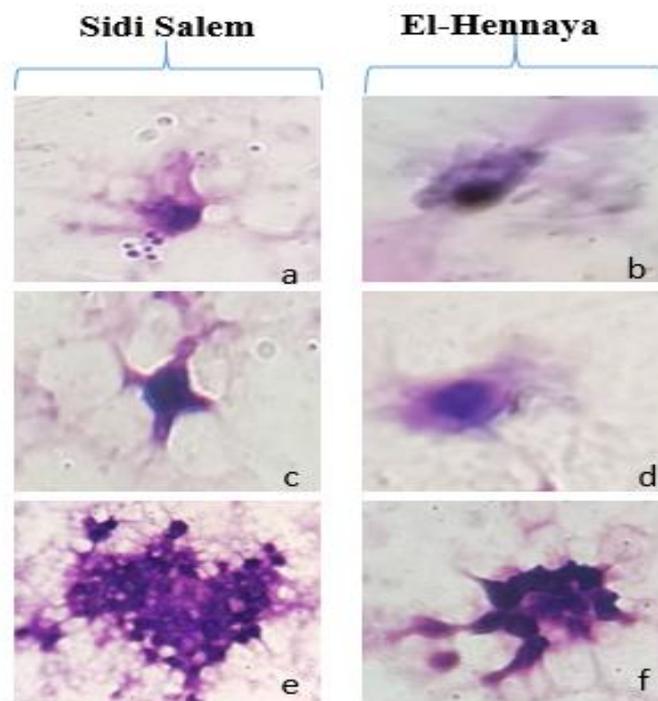


Figure 15. Observation microscopique des hémocytes au niveau des frottis de *P. perna* ((Gr : $\times 1600$) ; a et b : des granulocytes phagocytoses ; c et d : hyalinocytes phagocytoses ; e : grande agglomération ; f : petites agglomération.

VII. Discussion

La coloration MGG est une méthode fréquemment employée pour caractériser les hémocytes, afin de mettre en évidence le maximum possible d'aspects cellulaires.

L'examen microscopique a permis une caractérisation morphologique des cellules hémocytaires de l'hémolymphe de l'espèce *Perna perna* prélevée de deux sites (Sidi Salem et El-Hnaya) localisés au niveau du golfe d'Annaba.

Les observations avec des grossissements (x1000 et x1600) ont fourni des informations sur les aspects cellulaires et les malformations détectées au niveau des frottis mâles et femelles des deux sites. Egalement, des granulocytes, agranulocytes et hyalinocytes ont été présents dans l'hémolymphe de *P. perna*.

L'identification de diverses catégories de granulocytes présentant une intensité de granulation inégale dans leurs cytoplasmes. Dont, on peut pas mesurer les dimensions de ces granules avec le microscope photonique disponible à l'utilisation. Notant, l'existence de granulocytes à large granulation, à moyenne granulation et à faible granulation. En outre, la présence d'agranulocytes d'aspects.

Les hyalinocytes, quant à eux, sont nombreux dans cette étude et se divisent en deux catégories de tailles différentes (grande et petite). Détectant des différents formes, tailles et des localisations des noyaux qui se trouvent dans un cytoplasme agranuleux. On a signalé que la concentration des granulocytes est à peu près la même que celle des hyalinocytes. Les mêmes observations ont été décrit par l'étude de **Belabed et al. (2008)** sur l'espèce *perna perna*.

Étant donné qu'il n'existe pas d'accord sur la composition de l'hémolymphe des bivalves. Cependant, une classification commune des hémocytes en granulocytes et hyalinocytes des bivalves existe (**Hine, 1999**). Des résultats similaires à ceux d'autres études de la zone intertidale ont été démontrés (**Hine, 1999 ; Pila et al., 2016**). Le travail de **Cheng (1996)** sur l'espèce *Crassostrea hongkongensis* a mentionné l'existence de mêmes types cellulaires.

Les mêmes observations ont été signalées au cours de la lecture des frottis mâles et femelles. Ces résultats étant en concordance avec l'étude menée par **Henry (1991)**, il n'y a pas eu de différence significative dans la composition de l'hémolymphe entre les deux sexes chez le bivalve *Mytilus galloprovincialis* Il est possible que les mécanismes de défense et d'immunité, qui impliquent les différentes formes d'hémocytaires, soient similaires selon les sexes, comme le suggèrent les résultats de (**Philippe, 1999**).

Les hémocytes des bivalves sont des cellules polyvalentes qui assurent de nombreuses fonctions cruciales pour la survie et le bien-être de ces organismes (**Cheng, 1981**). Tout d'abord, ils jouent un rôle fondamental dans l'immunité innée en phagocytant et en détruisant une grande variété d'agents pathogènes comme les bactéries, les virus et les parasites (**Mead et al., 1986**). Ils sécrètent également des enzymes et des substances antimicrobiennes qui permettent d'éliminer efficacement ces menaces. Au-delà de leur fonction de défense (**Sminia et Barendsen, 1980**), les hémocytes transportent les nutriments (**Narain, 1973**) et participent à la digestion (**Feng et al., 1977**), transportent l'oxygène et d'autres molécules à travers leur organisme, contribuant ainsi à l'homéostasie et à la régulation du métabolisme général des bivalves. En cas de blessure, ces cellules migrent rapidement vers le site lésé et participent activement à la cicatrisation et à la réparation des tissus (**Ruddell, 1971 ; Auffret, 1986**), sécrétant des facteurs de croissance et des molécules de la matrice extracellulaire (**Bang, 1975 ; Cheng, 1981 ; Fisher, 1986**). Certains hémocytes sont même impliqués dans des processus reproductifs comme la formation des gamètes et le développement embryonnaire.

Enfin, les hémocytes interviennent dans la détoxification et l'élimination des déchets métaboliques, jouant un rôle essentiel dans la santé de ces mollusques. Suite à la production de radicaux libres (**Dikkeboom et al., 1987**) dû à l'accumulation excessive surtout les métaux lourds (**George et al., 1978**), les hémocytes sont impliquées pour le maintien de l'intégrité physiologique des bivalves.

On a observé des anomalies nucléaires, tels que la formation de micronoyaux. Cette altération formée est peut être due à l'exposition à des agents génotoxiques, certainement les produits chimiques rejetés dans l'eau, la présence de micronoyaux est un signe de dommages chromosomiques. Il a été constaté dans plusieurs études que la présence de micronoyaux dans les hémocytes des mollusques bivalves est signalée après l'exposition à différents contaminants.

L'étude de **Bolognesi et Hayashi (2011)** a montré que les hémocytes peuvent développer des micronoyaux en s'exposant à des métaux lourds, tels que le cadmium et le plomb présents dans l'eau de mer chez l'espèce *M. galloprovincialis*. En outre, une autre recherche réalisée par **Simões et al. (2015)** a examiné l'effet des substances polluantes organiques, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques, sur *M. galloprovincialis*. Il est essentiel de mener des études approfondies, tant sur le plan fonctionnel que sur le plan génétique, afin de saisir la réaction des hémocytes face aux agressions des polluants, aux pathogènes, aux fluctuations des facteurs environnementaux (pH, salinité, température) et aux facteurs liés à l'espèce (**Fisher, 1986 ; Fallet, 2019**). Les facteurs environnementaux et physiologiques peuvent influencer de manière significative la variation des populations

d'hémocytes chez les mollusques bivalves (**Fisher, 1986**). En effet, ces cellules immunitaires jouent un rôle central dans la réponse de défense de ces animaux et leur abondance et leur activité peuvent être modulées en réponse à divers stimuli. Par exemple, des changements de température, de salinité, de disponibilité en nutriments ou encore la présence de pathogènes peuvent affecter le nombre et la fonctionnalité des hémocytes.

De même, les stades de développement, la maturité sexuelle ou encore les cycles reproductifs des bivalves peuvent également influencer la dynamique de leurs populations d'hémocytes. Cette flexibilité du système immunitaire inné permet aux mollusques bivalves de s'adapter rapidement aux fluctuations de leur environnement et de maintenir leur homéostasie, une caractéristique essentielle pour faire face aux stress et aux concurrences rencontrés dans leur habitat souvent variable et imprévisible. La compréhension de ces mécanismes de régulation des populations d'hémocytes représente donc un enjeu majeur pour mieux comprendre les capacités d'adaptation immunitaire de ces organismes clés des écosystèmes aquatiques.

L'influence des processus biologiques tels que l'aptitude de la réponse immunitaire, la régénération tissulaire et les fluctuations hormonales est probablement responsable des différences intra-individuelles concernant les individus d'une même espèce. En outre, ces différences peuvent également résulter de facteurs génétiques et d'expositions environnementales particulières (**Fallet, 2019**).

Conclusion

Conclusion

Cette étude a permis d'approfondir nos connaissances sur le système immunitaire et ses acteurs, les hémocytes de l'espèce *Perna perna*, l'un des bivalves pris comme modèle. Le choix de l'habitat de cet animal est sélectionné le long du golfe d'Annaba, deux sites sont désignés (site Sidi Salem et site El Hnaya).

En se basant sur les critères morphologiques, une dizaine de bivalves sont identifiés. Ainsi, une caractérisation des hémocytes (cellules sanguines) a fourni des informations précieuses sur l'état de santé, la réponse immunitaire et la capacité d'adaptation de ces bivalves aux conditions environnementales. Une caractérisation des différentes structures cellulaires a été identifiée par l'utilisation de la technique de coloration May-Grünwald Giemsa.

La lecture des frottis des individus mâles et femelles a mentionné la présence de cellules spécialisées appelées hémocytes, qu'on peut différencier en hyalinocytes, agranulocytes, les différents granulocytes. L'étude a mis en évidence aussi la fonction immunitaire assurée par ces hémocytes, « la phagocytose », notamment la capacité à détruire via l'action d'enzymes hydrolytiques ainsi que par la production et la libération de radicaux toxiques de l'oxygène. Les granulocytes ont montré une activité phagocytaire beaucoup plus intense que les hyalinocytes, en formant des associations plus grandes et plus abondantes chez les mâles du premier site.

Des lyses membranaires et des déformations cellulaires ont été marqués sur les frottis des deux sexes du deuxième site. Ainsi des altérations graves des noyaux, exprimées par fragmentations nucléaires en formant des micronoyaux.

Également, il convient de noter que cette technique, bien que courante, comporte certaines limites. Il est donc essentiel d'explorer de nouvelles approches de recherche afin d'approfondir la compréhension de l'immunologie et de l'adaptation de ce mollusque bivalve.

Parmi ces nouvelles techniques, on peut citer la microscopie électronique, la cytométrie en flux et l'utilisation de marqueurs immunohistochimiques. Ces méthodes peuvent apporter des informations plus détaillées sur les caractéristiques fonctionnelles des hémocytes, permettant ainsi une connaissance plus approfondie du système immunitaire chez ces espèces.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Adedeji O.B. & Okocha R.O. (2012).** Overview of pesticide toxicity in fish. *Adv. Environ. Biol.* 6: 2344-235p.
- Alessandro Lovatelli. (2006).** Écloserie de bivalves : Un manuel pratique, Rome, FAO, 184 p
- Alfred F. (2002).** Cofrancesco, « Nervous System and Sense Organs in Bivalves [[archive](#)] », sur *Zebra Mussel Research Program*
- Allam, B. & Paillard, C. (1998).** Defense factors in clam extrapallial fluids., *Dis. Aqua. Org* (33) :123-129.
- Allam, B., & Raftos, D. (2015).** Immune responses to infectious diseases in bivalves. *Journal of invertebrate pathology*, 131, 121-136.
- Allen J. A. & Morgan Rhona E. (1981).** « *The functional morphology of Atlantic deep water species of the families Cuspidariidae and Poromyidae (Bivalvia): an analysis of the evolution of the septibranch condition* », *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, vol. 294, n° 1073, , p. 413–546 ([DOI 10.1098/rstb.1981.0117](#)).
- Almeida W.F. (1982).** Fondements toxicologiques des plaguicides et pesticides : Salud y Ambiente. 62-74p.
- Altmeyer A., Abadia G., Schmitt S. & Le-prince A. (1990).** Risque microbiologique et travail dans les stations d'épuration des eaux usées. *Midico technique*, 384p.
- Aminot A. & Guillaud J.F. (1993).** Spéciation du phosphore et apports en baie de seine orientale, *IFREMER, Océanologie acta*, 16 (5-6), 617-623p
- Auffret, M. (1986).** Histologie et cytologie de la défense chez les mollusques bivalves. *Oceanis*, 15(3), 309-326.
- Auffret, M. (1986).** Histology and cytology of the digestive gland cells of the oyster *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 58(1-2), 167-175.

B

- Bachelot, M. (2010).** Contamination de moules (*Mytilus* sp.) en milieu marin par des substances pharmaceutiques et produits de soin (Doctoral dissertation, Montpellier)
- Balaban, P.M., Bravarenko, N.I., Dolgikh, V.V., Korshunova, T.A., & Nikitin, E.S. (2011).** Behavioral and neurophysiological aspects of learning and memory in mollusks. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 41(2), 197-207.
- Bang, F. B. (1975).** Endotoxin and the amebocyte in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *Tissue and Cell*, 7(3), 421-440.

- Barille, L. (1994).** Observations des éléments structuraux intervenant dans les mécanismes de nutrition préingestifs chez l'huître japonaise *Crassostrea gigas*. *Haliotis*, 23, 125-137.
- Barret, J.H., Yonge, C.M. (1958).** Collins Pocket Guide to the Sea Shore. Collins, London.
- Bayed, A. (1998).** Etude écologique des Donax des plages atlantiques marocaines. Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, 46, 1-155.
- Bayne B.L. (1976)** Marine mussels. Their ecology and physiology. Cambridge (U.K). Cambridge University Press. 506p.
- Bayne, B. (1976).** Marine Mussels: Their Ecology and Physiology, International Biological Programme Vol 10. (Cambridge University Press).
- Bayne, B. (1976).** Marine Mussels: Their Ecology and Physiology, International Biological Programme Vol 10. (Cambridge University Press).
- Bayne, C. J., & Hawkins, A. J. (1997).** Protein metabolism of marine bivalve molluscs: structural and functional adaptations. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 28, pp. 283-361). Elsevier.
- Beck, G., & Habicht, G. S. (1991).** Immunity and the invertebrates. *Scientific American*, 265(5), 106-113.
- Belabed, A. S., Rouane-Hacene, O., Boulaaba, A., & Boutiba, Z. (2008).** Etude de la glycémie et de la numération hématocytaire chez la moule *Perna perna* (Mollusque, Bivalve) dans le site côtier d'Arzew (Ouest algérien). *Bulletin de la Société zoologique de France*, 133(1-3), 101-108.
- Beninger, P. G., Cannuel, R., Jaunet, S., Le Pennec, M., & Séité, S. (2003).** Particle processing mechanisms in the stomodeal cavity of the oyster *Crassostrea gigas* (Bivalvia: Ostreidae). *Marine Ecology Progress Series*, 257, 125-132.
- Benomar S., Bouhaimi A., El Hamidi F., Mathieu M., Ouichou A., Moukrim A. (2006).** *Biologie & Santé* vol. 6, n° 1,
- Blaise, C., Gagné, F., Pellerin, J., & Hansen, P. D. (1999).** Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): a potential biomarker for endocrine disruption. *Environmental Toxicology*, 14(5), 455-465.
- Bolognesi, C., & Hayashi, M. (2011).** Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis*, 26(1), 205-213.
- Bouchard, D. (2004).** Étude de la structure et de la fonction du byssus chez les moules. Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec, Canada.
- Bourlat, S. J., Juliusdottir, T., Lowe, C. J., Freeman, R., Aronowicz, J., Kirschner, M., ... & Telford, M. J. (2008).** Deuterostome phylogeny reveals monophyletic chordates and the new phylum Xenoturbellida. *Nature*, 456(7212), 738-742.

Bourquin, R.E. (2000). Mollusca: The Southern Synthesis. *Fauna of Australia*, 5, 565-1234.

Brian Morton. (2012). « *Bivalve: The mantle and musculature* [archive] », *Encyclopædia Britannica*.

Brian Morton. (2012). « *Mollusk: The nervous system and organs of sensation* [archive] », *Encyclopædia Britannica* (consulté le 8 juillet).

Brisou J.F. (1968). La pollution microbienne, virale et parasitaire des eaux littorales et ses conséquences sur la santé publique. *Bulletin. O.M.S*, 38 :79-118p.

Bryan G.W., Langston W.J., Hummerstone L.G. & Burt G.R. (1985). A guide to the assessment of heavy metal contamination in estuaries using biological indicators. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K. Special publication n°4*: 1-92p

Cahen, D., 2005 - Dossier didactique, Moules natures, Muséum des Sciences naturelles 31 p.

C

Cajaraville, M.P., Díez, G., Marigómez, J.A. and Angulo, E., (1996). Cellular and subcellular distribution of copper, zinc and cadmium in the digestive gland of mussels from a copper-polluted estuary. *Tissue and Cell*, 28(5), pp.557-568.

Canesi, L., Borghi, C., Ciacci, C., Fabbri, R., Lorusso, L. C., Vergani, L., ... & Viarengo, A. (2008). Effects of 4-nonylphenol on immunity in the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Marine environmental research*, 66(1), 29-30.

Canesi, L., Scarpato, A., Betti, M. G., Ciacci, C., Pruzzo, C., & Gallo, G. (2002). Bacterial killing by mytilus hemocyte monolayers as a model for investigating the signaling pathways involved in mussel immune defence. *Marine Environmental Research*, 54(3– 5), 547–551.
[https://doi.org/10.1016/s0141-1136\(02\)00144-7](https://doi.org/10.1016/s0141-1136(02)00144-7)

Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., & Gallo, G. (1999). Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46(1), 67-76.

Carballal, M. J., & Villalba, A. (2017). Diseases of bivalve molluscs in culture. In *Aquaculture in the Ecosystem* (pp. 255-288). Springer, Cham.

Carolus Linnaeus. (1758). *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata*, Laurentii Salvii, 1758, 645 p.

Chambost-Manciet Y. (2002) Ampleur et effets biologiques de la contamination métallique (Cd, Cu, Fe, Pb et Zn) des sédiments en Mer du Nord. Utilisation de l'étoile de mer *Asterias rubens* (L.) comme bioindicateur et biomarqueur (mémoire). Université Libre de Bruxelles, Belgique.

Cheng, T. C. (1981). Bivalves. In N. A. Ratcliffe & A. F. Rowley (Eds.), *Invertebrate Blood Cells* (Vol. 1, pp. 233-300). Academic Press.

- Cheng, T. C. (1996).** Haemocytes: forms and functions. The eastern oyster *Crassostrea virginica*, 299-333.
- Cheng, T. C., & Rifkin, E. (1970).** Cellular reactions in marine molluscs in response to helminth parasitism. *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 177-195.
- Cheng, T.C. (1996).** Hemocytes: forms and functions. In: Kennedy, V.S., Newell, R.I.E. & Eble, F. (eds) *The eastern oyster Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, College Park, p 299-333.
- Chouteau C. (2004)** Développement d'un biocapteur conductimétrie bi-enzymatique à cellules algales. (Doctoral dissertation,Lyon,INSA).0066:179p
- Chu, F. L. E. (2000).** Defense Mechanisms of Marine Bivalves., *Mar. Biotech.*, pp : 1-42.
- Coleman J., Blake-Kalff M. & Davies E. (1997).** Detoxification of xenobiotic by plants : chemical modification and vacuolar compartmentation. *Trends in Plant Science.* (2) :144-151p.
- CRC. (2010).** Mytiliculture. Publication du Comité Régional de la Conchyliculture Bretagne Iud. Htto : //www.hitres-de-bretagne.com/mytiliculture. de la commission des questions sociales, de la santé et de la famille du conseil de l'Europe. Doc : 12613
- Cuvier, G. (1837).** Le règne animal distribué d'après son organisation, pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée. Fortin, Masson et cie.

D

- Deconinck. W. (1971).** Dossier didactique moules nature.
- Dikkeboom, R., Tijnagel, J. M. G. H., Mulder, E. C., & van der Knaap, W. P. W. (1987).** The production of toxic oxygen metabolites by hemocytes of the pond snail *Lymnaea stagnalis* in relation to the rate of phagocytosis of lipopolysaccharide-coated particles. *Journal of Invertebrate Pathology*, 49(3), 321-331.
- Dirilegen N. (2000)** Accumulation of heavy metals in fresh water organisms: Assessment of toxic interactions. *Turk. J. Chem.*25(2001):173-179p
- Domingo Lloris & Jaume Rucabado. (1998).** *Guide FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche*, Food & Agriculture , 263 p. (ISBN 92-5-204162-1 et 9789252041627), p. 193
- Donaghy, L., Kim, B. K., Adhya, M., Choi, K. S., & Cellier, M. F. (2009).** Characterization of the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) iron-binding protein Nramp and its role in host resistance to *Perkinsus olseni*. *Fish & Shellfish Immunology*, 27(3), 469-479.

E

Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.

F

Fallet, M. (2019). Cellular and molecular responses of *Mytilus* spp. hemocytes to environmental stressors. Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France.

FAO. (1996). Assurance de qualité des produits de la pêche. Document technique sur les pêches n°334. FAO, Rome, Italie.

Feng, S. Y., Feng, J. S., Burke, C. N., & Khairallah, L. H. (1977). Light and electron microscopy of the process of phagocytosis of human erythrocytes by hemocytes of the mollusc *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Invertebrate Pathology*, 30(3), 318-335.

Fischer, P. H. (1887). Manuel de conchyliologie et de paléontologie conchyliologique ou histoire naturelle des mollusques vivants et fossiles. Librairie F. Savy.

Fisher, C. D. (1986). Organizational Socialization : An Integrative View., *Research in Personnel and Human Resources Management* (4) : 101-145.

Fisher, W. S. (1986). Structure and functions of oyster hemocytes. In M. Brehélin (Ed.), *Immunity in Invertebrates* (pp. 25-35). Springer.

Foucault, B., Moreteau, J.-C., & Potrieux, G. (2014). Mollusques et crustacés : biologie et aquaculture. Éditions Quæ, Versailles.

G

Gagné, F. (2014). Impacts of pollutants on the immune system of aquatic invertebrates. In P. Maurizio & G. Canesi (Eds.), *Invertebrate Immunity* (pp. 263-285). Springer, Cham

Gagne, F., Blaise, C., Pellerin, J., & Fournier, M. (2002). Effects of pharmaceutical products and municipal wastewaters on temperature-dependent mitochondrial electron transport activity in *Elliptio complanata* mussels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(4), 465-479.

Galgani F. & Bocquené G. (1998). Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphorés et carbamates." *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement.* (1998), 111-134.

Galloway, T.S. (2007). Biomarkers in environmental and human health risk assessment. *Mar. Pollut. Bull.* 53: 606–613.

Gaspar M.B., Ferreira R. & Monteiro C. (1999). Growth and reproductive cycle of *Donax trunculus* L. (Mollusca: Bivalvia) in Faro, southern Portugal. *Fish. Res.* 41: 309–316p.

Gaspar M.B., Ferreira R. & Monteiro C. (1999). Growth and reproductive cycle of *Donax trunculus* L. (Mollusca: Bivalvia) in Faro, southern Portugal. *Fish. Res.*, 41: 309–316p.

Gauthier M.J. & F-E, Perry.J. (1980). Introduction to environmental toxicology Black wellscientific publication, 484p

Gelman A., Drabkin V. & Glatman L. (2001). Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products, as starter cultures for new fish-based food products. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, 1: 219-226p.

George, S. G., Pirie, B. J. S., Cheyne, A. R., Coombs, T. L., & Grant, P. T. (1978). Detoxication of metals by marine bivalves: An ultrastructural study of the compartmentation of copper and zinc in the oyster *Ostrea edulis*. *Marine Biology*, 45(2), 147-156.

Getzin L.W. (1985) Factors influencing the persistence and effectiveness of chlorpyrifos in soil. *J. Econ. Entomol.* 78(2):41-418p.

Glatman L., Drabkin V. & Gelman A. (2000). Using lactic acid bacteria for developing novel fish food products. *J. Sci. Food Agric.*, 80: 375-380p.

Gmelin, J.F. (1791). *Caroli a Linné Systema Naturae per Regna Tria Naturae, Secundum Classes, Ordines, Genera, Species, Cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis.* Tom. I. Pars VI. G.E. Beer.

González, H. & Brüggmann, L. (1991). Heavy Metals in Littoral Deposits Off Havana City, Cuba. *Chemistry and Ecology*, 5(3) ; 171–179p

Gosling, E. (2003). *Bivalve Molluscs: Biology, Ecology and Culture*, 443 p

Gouletquer, P. et Heral, M. (1997). *Marine Molluscan Production Trends in France: From Fisheries to Aquaculture.* NOAA Technical Report NMFS 129. National Marine Fisheries Service, Seattle, Washington.

Grassé, P.-P. (1960). *Traité de Zoologie : Anatomie, Systématique, Biologie.* Tome V, Fascicule 2 : Mollusques Gastéropodes et Scaphopodes. Masson et Cie, Paris.

Grizel, H. & Auffret, M. (2003). *Pathologie des mollusques bivalves.* Ifremer.

Grizel, H., & Auffret, M. (2003). *Mollusques bivalves : anatomie, physiologie et pathologie.* Ifremer, Brest.

Guderley, H., & St-Pierre, J. (2002). Going with the flow or life in the fast lane: contrasting mitochondrial responses in stickleback fishes. *Journal of Experimental Biology*, 205(3), 339-348.

Guillou, J. (1982). Contribution à l'étude du genre *Donax* sur les côtes de Bretagne. *Cahiers de Biologie Marine*, 23(4), 469-487.

Hancock, R. E., Sahl, H. G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnology*, 24(12), 1551-1557.

Harrington, M.J., Gupta, H.S., Fratzl, P., & Waite, J.H. (2010). Collagen insulation: Bioinspired cuticle-like protective layers for flexible electronics. *Science*, 329(5995), 1055-1058.

Haszprunar, G., Wanninger, A., & Fuchs, J. (2008). A "new" organ finds a home: the edge cells of the sipunculan trochophore are the progenitors of the molluscan shell gland. *Frontiers in zoology*, 5(1), 1-7.

Helm, M.M., Bourne, N., Lovatelli, A. (2004). Hatchery culture of bivalves. A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper. No. 471. Rome, FAO. 177p.

Henri Grizel & Michel Auffret. (2003). Atlas d'histologie et de cytologie des mollusques bivalves marins : Optimisation et développement des productions aquacoles, Plouzané, Éditions Quae, , 201 p. (ISBN 2-84433-111-4 et 9782844331113)

Henry, M. (1991). Cytologie comparée du sang de la moule *Mytilus edulis* L. (Mollusque, Bivalve) selon le sexe et la période de l'année. *Cahiers de Biologie Marine*, 32(1), 83-94.

Hickman, C.P., Roberts, L.S., Larson, A., l'Anson, H., & Eisenhour, D.J. (2008). *Integrated Principles of Zoology* (14th ed.). McGraw-Hill Higher Education.

Hine, P. M. (1999). The inter-relationships of bivalve haemocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 9(5), 367-385.

Hirsch M. (2002) Evaluation des risques liés à la consommation de produits de la pêche importés. AFSSA, DERNS/Enr.22/Ind.D. Maisons-Alfort, Fr.

Hoebe, K., Janssen, E., & Beutler, B. (2004). The interface between innate and adaptive immunity. *Nature immunology*, 5(10), 971-974.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.006>

Holland B., Brown J. & Buss D.H. (1993). *The Composition of Foods*, Londres, Fish & Fish Products.

Hughes, T. K., Chin, R., Schecter, E. S., & Smith, E. M. (1990). Identification of leucine-enkephalin as a potential mediator of opioid signal transduction within the invertebrate immune system. *Cellular immunology*, 127(2), 362-377.

Hughes, T. K., Fulford, A. J., & Smith, E. M. (1991). The role of cytokines (growth factors) in immunity in invertebrates. *Developmental & Comparative Immunology*, 15(4), 283-285.

Jacob, D.E., Soldati, A.L., Wirth, R., Huth, J., Wehrmeister, U. & Hofmeister, W. (2008). « *Nanostructure, composition and mechanisms of bivalve shell growth* », *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72 ; 5401-5415 p.

Jia, Z., Wang, L., Song, X., Duan, Y., & Wang, L. (2015). The role of C1q domain containing proteins in innate immune response of mollusk *Chlamys farreri*. *Developmental & Comparative Immunology*, 51(1), 94-102.

Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyaluksana, K., & Söderhäll, K. (1995). Crustacean haemocytes and haematopoiesis. *Aquaculture*, 132(1-2), 45-52.

Johnstone, I. L., Loomis, S. H., & Mount, A. S. (2008). Shell repair in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Journal of Shellfish Research*, 27(2), 289-294.

κ

Käferstein F., Motarjemi K. & Bettcher D.W. (1997). Food born disease control: A transnational challenge. *Emer. Infect. Disea*, 3: 603-610p.

Kaiser, H.E. ed., (2001). Pollution in the marine environment. Birkhäuser.

Khelil, F.Z. (2007). Evaluation de la contamination bactérienne de l'eau de mer et d'un mollusque de moule *M. galloprovincialis* pêché du port d'Oran. 57 p.

Kim, R., & Sharma, A. (2004). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicology mechanisms and methods*, 14(4), 183-210.

Krause, G., & Fábregas, J. (2016). Microalgae for aquaculture: the current global situation and future trends. In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products* (pp. 615-652). Academic Press.

ℓ

Lacaze, J.C., (1980). The impact of petroleum on the marine environment. *Chemical and Biological Aspects*. Paris: UNESCO, 353.

Lacoste, A., Malham, S. K., Cueff, A., & Poulet, S. A. (2002). Stress-induced catecholamine changes in the hemolymph of the oyster *Crassostrea gigas*. *General and Comparative Endocrinology*, 129(2), 128-134.

Le Foll, F., Rioult, D., Boussa, S., Pasquier, J., Dagher, Z., & Leboulenger, F. (2010). Characterisation of *Perna perna* haemocyte subpopulations: morphological and functional studies. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(5), 803-813.

Le Foll, F., Rioult, D., Boussa, S., Pasquier, J., Dagher, Z., & Leboulenger, F. (2010). Characterisation of *Mytilus edulis* hemocyte subpopulations by single cell time-lapse motility imaging. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(2), 372-386.

Le Renard J. Sabelli B. et Taviani M. (1996). « *On Candinia (Sacoglossa: Juliidae), a new fossil genus of bivalved gastropods* », *Journal of Paleontology*, vol. 70, n° 2, 1996, p. 230–235 ([JSTOR 1306386](#)).

Linnaeus, C. (1758). *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. Tomus I. Editio decima, reformata.*

Lorteau, C., Auffret, M. & Le Bris, H. (1995). Le système d'immuno-défense des Mollusques bivalves. I. Structure et fonctionnement. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 171: 415-422.

Lovatelli, A. (2006). Élevage des mollusques bivalves : nouvelle approche. FAO, Rome.

Lubet P. & Aloui N. (1987) Limites létales thermiques et action de la température sur la gamétogenèse et l'activité neurosécrétoire chez la moule (*M. edulis* et *M. galloprovincialis*), mollusque bivalve. *Haliotis*.16 : 309-316p.

Lucas, A. (1965). La biologie des bivalves marins. Mémoires de l'Institut Océanographique de Monaco, 1, 1-128.

Lushchak, V. I., & Storey, K. B. (2005). Oxidative stress and antioxidant defenses in hemolymph and tissues of the marine bivalve *Mytilus edulis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 142(3), 390-399.

M

Manahan, D. T., Wright, S. J., Stephens, G. C., & Rice, M. (1982). Transport of Dissolved Amino Acids by the Mussel, *Mytilus edulis* : Demonstration of Net Uptake from Natural Seawater. *Science*, 215(4537), 1253–1255.

Marcel Choquet (1970), « *Analyse des cycles sexuels naturels chez les mollusques hermaphrodites et gonochoriques* », *Bulletin de la Société zoologique de France*, vol. 95, , p. 393-405

Marchand M. (2005). Les toxiques organiques dans les milieux aquatiques. Colloque « les substances chimiques dangereuses dans les milieux aquatiques », Salon Pollutec 1er décembre 2005 (Présentation orale).

Marche, A. (2003). Étude de la croissance et de la longévité d'une espèce marine benthique. *Revue de Biologie Marine*, 45(2), 123-135.

Maroni M., Colosio C., Ferioli A. & Fait A. (2000) Biological monitoring of pesticide exposure: à review. *Int. Toxicol.*143(1): 5-118p.

Marteil, L. (1974). La conchyliculture française. Première partie. Situation actuelle et problèmes posés. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 38(1), 5-108.

Matozzo, V., Monari, M., Foschi, J., Pasti, A., Moretti, V. M., Gatti, G., ... & Marin, M. G. (2012). Effects of chlorpyrifos on the human-like cholinesterase activity and apoptosis-

related parameters of the clam *Chamelea gallina*. *Marine environmental research*, 79, 128-135.

Matzinger, P. (1994). Tolerance, danger, and the extended family. *Annual review of immunology*, 12(1), 991-1045.

McGraw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms, McGraw-Hill Companies (consulté le 7 mai 2012)

Mclachlan A. (1996). Physical factors in benthic ecology : effects of changing particle size on beachfauna. *Marine Ecology Progress Series*, 131 : 205–217p.

Mead, G. P., Ratcliffe, N. A., & Renwantz, L. R. (1986). The separation of oyster (*Crassostrea gigas*) haemocyte types on a discontinuous density gradient. *Developmental & Comparative Immunology*, 10(3), 437-447.

Mitta, G., Hubert, F., Noël, T., & Roch, P. (2000). Myticin, a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *European Journal of Biochemistry*, 267(5), 1359-1368.

Mitta, G., Vandenbulcke, F., Hubert, F., Roch, P. (2000). Mussel defensins are synthesised and processed in granulocytes then released into the plasma after bacterial challenge. *Journal of Cell Science*, 113(Pt 23), 4233-4242.

Montagnani, C. (2002). Etude des mécanismes de défense de l'huître creuse *Crassostrea gigas*: Caractérisation des hémocytes et de leurs relations avec le système nerveux. Doctoral dissertation, Université de la Méditerranée-Aix-Marseille II.

Montagnani, C., Labreuche, Y., & Escoubas, J. M. (2008). *Crassostrea gigas* host defense related genes: identification of molecular markers of pathogen resistance and immunity. *Genetics and Molecular Research*, 7(3), 706-715.

Montes, J. F., Durfort, M., & García Valero, J. (1995). Cellular response to *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) of the clam *Tapes semidecussatus*. *Aquaculture*, 132(1-2), 27-37.

Montes, J. F., Durfort, M., & García Valero, J. (1997). Characterization and immunolocalization of a main proteinaceous component of the cell wall of the parasite *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa). *Parasitology*, 114(6), 581-590.

Moore M.N. (2002). Biocomplexity: the post-genome challenge in ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*. 59:1-15p.

Moore M.N., Depledge M.H., Readman J.W. & Paul Leonard D.R. (2004) An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 552:247-268p

Moore, M.N., Depledge, M.H., Readman, J.W. & Paul Leonard, D.R. (2004). An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutat. Res.* 552: 247–268.

Mouëza, M. (1971). Contribution à l'étude de la biologie des bivalves marins : le pied et son rôle. *Vie et Milieu*, 22(1), 1-34.

Moukrim A., El Hamidi F., Lagbouri A., Kaaya A., Zekhnini A., Bouhaimi A. & Muniain., Mujika I., Calvo M., Lucena F. & Girones R. (2003). Comparative analysis of viral pathogens and potential indicators in shellfish. *Intern. J. Food Microbiol*, 83:75-85p.

Mount, A. S., Wheeler, A. P., Paradkar, R. P., & Snider, D. (2004). Hemocyte-mediated shell mineralization in the eastern oyster. *Science*, 304(5668), 297-300.

Mydlarz, L. D., Jones, L. E., Harvell, C. D. (2006). Innate immunity, environmental drivers, and disease ecology of marine and freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 251-288.

N

Nakanishi, Y., & Shiratsuchi, A. (2006). Phagocytic removal of apoptotic cells: a new vista. *Trends in Cell Biology*, 16(11), 644-650.

Nakanishi, Y., & Shiratsuchi, A. (2006). Phagocytic removal of apoptotic cells: a new vista. *Trends in Cell Biology*, 16(11), 644-650.

Narain, A. S. (1973). Blood cells (hemocytes) of gastropod molluscs. *Malacological Review*, 6(1-2), 79-124.

Novas, A., Barcia, R., Ramos-Martínez, J. I. (2004). Phagocytic activation of haemocytes from *Mytilus galloprovincialis* Lmk and their implication in the process of inflammation. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(4), 436-447.

O

Ottaviani, E., Franchini, A., Cassanelli, S., Genedani, S. (2000). Cytokines and invertebrate immune responses. *Biological Cell*, 92(5), 331-336.

P

Pelletier, É., & Campbell, P. G. C. (2004). Écotoxicologie moléculaire: Principes fondamentaux et perspectives de développement. PUQ.

Pérès, J.M. (1976). la pollution des eaux marine, paridé 01-67-70-71-117 p

Pernet F., Malet N., Pastoureaud A., Vaquer A., Quéré C. & Dubroca L. (2012). « *Les diatomées marines à l'origine de la croissance des bivalves dans une lagune méditerranéenne* », *Journal of Sea Research*, vol. 68, p. 20-32.

- Philippe, A. (1999).** Composition de l'hémolymphe et immunité chez le bivalve *Mytilus galloprovincialis*. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France.
- Phillips D. (1980)** Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Chapman & Hall, London.
- Pila, E. A., Sullivan, J. T., Wu, X. Z., Fang, J., Rudko, S. P., Gordy, M. A., & Hanington, P. C. (2016).** Haematopoiesis in molluscs: a review of haemocyte development and function in gastropods and bivalves. *Developmental & Comparative Immunology*, 58, 119-128.
- Pipe, R. K., & Coles, J. A. (1995).** Environmental contaminants influencing immunofunction in marine bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, 5(8), 581-595. [https://doi.org/10.1016/S1050-4648\(95\)80043-3](https://doi.org/10.1016/S1050-4648(95)80043-3)
- Piveteau, J. (1992).** *Traité de Paléontologie*, Tome 2. Masson, Paris.
- Potasman I., Paz A. & Odeh M. (2002).** Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: a world-wide perspective. *Clin. Infect. Dis*, 35 : 921-928p.
- Pulteney, R. (1799).** *Catalogues of the Birds, Shells, and Some of the More Rare Plants, of Dorsetshire: From the New and Enlarged Edition of Mr. Hutchins's History of That County.* Cadell and Davies
- R**
- Ramade F. (1982).** pollution des eaux marines. 452 p
- Rao, J.V., Srikanth, K., Pallela, R. and Rao, T.G., (2007).** The use of marine shrimp, *Metapenaeus monoceros* as a model organism to assess the toxicity of malathion. *Ecotoxicology and environmental safety*, 68(2), pp.272-279.
- Regoli, F., & Giuliani, M. E. (2014).** Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress in marine organisms. *Marine Environmental Research*, 93, 106-117.
- Reice S.R. & Wohlenberg M. (1993).** Monitoring freshwater benthic macroinvertebrates and benthic processes : measures for assessment of ecosystem health. in D. M. Rosenberg, and V. H. Resh, eds. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman and Hall, New York, NY. 287–305.
- Renault, T., Cochennec, N., Grizel, H., & Poggi, R. (2000).** *Marteilia refringens* affects reproduction of Manila clam *Ruditapes philippinarum* in Normandy (France). *Diseases of Aquatic Organisms*, 42(2), 151-157.
- Réseau National de Bassin RNB (1999).** Les micropolluants dans les cours d'eau français, 3 années d'observations (1995 à 1997). Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement et les agences de l'eau. France.
- Richardson, C. A., Runham, N. W. & Crisp, D. J. (1981).** « *A histological and ultrastructural study of the cells of the mantle edge of a marine bivalve, Cerastoderma edule* », *Tissue & Cell*, n° 13, , p. 715-730.

Rittschof D., & McClellan-Green P. (2005). Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. *Marine pollution bulletin*, 50(4); 369-373 p.

Robert L. Dorit, Warren F. Walker Jr. & Robert D. (1991). Barnes, Zoology, Saunders College Publishing, 1009 p.

Ruddell, C. L. (1971). The fine structure of the amebocytes of the mollusc *Mercenaria mercenaria*. *The Journal of Invertebrate Pathology*, 17(1), 6-13.

S

Sang, N. V., Van Thinh, B., Tran, M. T., & Dao, T. T. (2016). Genetic variation and antifouling performance of the green-lipped mussel (*Perna viridis*) in Vietnam. *Aquaculture*, 450, 369-377.

Sani A. & Idris M.K. (2016). Acute toxicity of herbicide (glyphosate) in *Clarias Gariepinus* Juveniles, *Toxicology Reports*.3 :513-515p.

Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava, A.N. & Sarker, S. (2006). Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology* 15: 333–340.

Savage, N.L., Paulson, K.E. and Waller, D.P., (1988). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human milk, cord blood, placenta, and embryo from pregnant women in Taiwan. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 17(4), pp.459-463.

Schumacher, C.F. (1817). *Essai d'un nouveau système des habitations des vers testacés.* Copenhagen.

Sensi S.L. & Jeng J.M. (2004). Rethinking the Excitotoxic Ionic milieu. The emerging role of Zn²⁺ in Ischemic Neuronal Injury, *Current molecular medicine*.4(2): 87-111p.

Shafee M.S. (1999). *Pêche des bivalves sur la côte méditerranéenne marocaine*, Alicante, Espagne, FAO-COPEMED, novembre, 58 p., p. 2.

Simões, T., Novais, S. C., Natal-da-Luz, T., Renaud, J. M., Devaud, S., Bouchon, C., ... & Sousa, J. P. (2015). Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on the predictive hallmarks of aging in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 203, 118-126. **Simon Tillier. (2005),** « *Terminologie et nomenclatures scientifiques : l'exemple de la taxonomie zoologique* », *Langages*, vol. 39, n° 157, 2005, p. 115.

Sminia, T., & Barendsen, L. (1980). A comparative morphological and enzymatic study on blood cells of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*, the pond snail *Radix peregra*, and the marine pulmonate *Onchidella celtica*. *Biological Bulletin*, 159(2), 263-276.

Smith D., Barlow K., Alderton L. & Jacobson M. (2001) **Smith D., Barlow K., Alderton L. & Jacobson M. (2001).** Outbreak alert : center for sciences in public interest (cspi) : Washington, 48 p.

Smith, V. J. (2001). Immunology of invertebrates: cellular. eLS.

Söderhäll, K., Cerenius, L., & Johansson, M. W. (1994). The prophenoloxidase activating system and its role in invertebrate defence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 712(1), 155-161.

Soudant, P., Chu, F. L. E., & Volety, A. K. (2013). Host-parasite interactions: Marine bivalve molluscs and protozoan parasites, Perkinsus species. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114, 196-216.

Soudant, P., Chu, F. L. E., & Volety, A. K. (2013). Host-parasite interactions: Marine bivalve molluscs and protozoan parasites, Perkinsus species. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114, 196-216.

Soudant, P., Chu, F. L. E., & Volety, A. K. (2013). Host-parasite interactions: Marine bivalve molluscs and protozoan parasites, Perkinsus species. *Journal of Invertebrate Pathology*, 114, 196-216.

Spittgerber A.G. & Tappel A.L. (1979). Inhibition of glutathione peroxidase by cadmium and other metals. *Arch. Biochem. Biophys.*197(2) :534-542p.

Stefano, G. B. (1990). Neurobiology of *Mytilus edulis*. Manchester University Press.

T

Tantillo M., Fontanarosa M., DI Pinto A. & Musti M. (2004). Updated perspectives on emerging vibrios associated with human infections. *Letters in Appl. Microbiol*, 39: 117-126p.

Thain, J.E., Vethaak, A.D. & Hylland, K. (2008). Contaminants in marine ecosystems: developing an integrated indicator framework using biological-effect techniques. – *ICES. J. Marine Sci.* 65: 1508–1514.
Titlow, B. (2007). *Seashells : Jewels from the Ocean*, Voyageur Press, 112 p. (ISBN 978-0-7603-2593-3, lire en ligne [archive]), p. 29.

Toke, O. (2005). Antimicrobial peptides : new candidates in the fight against bacterial infections. *Biopolymers* (80) :717–735.

Tryon, G.W. (1884). Structural and Systematic Conchology: An Introduction to the Study of Mollusca. Academy of Sciences of Philadelphia, Philadelphia. Vol. 1. 312 pp., pls. 1-22, Vol. 2. 430 pp., pls. 23-91, Vol. 3. 453 pp., pls. 92-140. (Solenacea: Vol. 3: 128-134, 1884).

Tsangaris, C. (2011). Active biomonitoring in Greek coastal waters: application of the integrated biomarker response index in relation to contaminant levels in caged mussels. *Sci. Total Environ.* 412–413, 359–365

Turgeon, D. D., Quinn, J. F., Bogan, A. E., Coan, E. V., Hochberg, F. G., Lyons, W. G., ... & Roper, C. F. (1998). Common and scientific names of aquatic invertebrates from the United States and Canada: Mollusks. American Fisheries Society Special Publication, 26, 526.

u

U.N.E.P. (1999). The potential effects on human health and the environment arising from possible use of depleted uranium during the 1999 Kosovo conflict. United Nations Environment Programme. Geneva. CH

Usero J., Morillo J. & Gracia I. (2005). Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, 59 (8): 1175-1181p.

V

Van Der Oost R., Beyer J. & Vermeulen N.P.E. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*.13(2):57-149p.

Vaughan, G.L. (2008). Adaptive Diversity of Bivalve Hemocytes. In: *Advances in Marine Biology*, Volume 54 (pp. 1-156). Academic Press.

Villeneuve, A. & Désire, G. (1965). Anatomie comparée des mollusques. Masson et Cie, Paris, France.

Von Cosel, R. (1990). An introduction to the razor shells (BIVALVIA: SOLENACEA). The Bivalvia Proceedings of a Memorial Symposium in Honour of Sir Charles Maurice Yonge. 283-305.

Von Cosel, R. (2009). The razor shells of the eastern Atlantic, part 2. Pharidae II: the genus *Ensis* Schumacher, 1817 (Bivalvia, Solenoidea). *Basteria*. 73: 9-26.

W

Waite, J. H. (1992). The Formation of Mussel Byssus : Anatomy of a Natural Manufacturing Process. In *Results and problems in cell differentiation* (pp. 27–54). Springer Science+Business Media. https://doi.org/10.1007/978-3-540-47207-0_2

Walker, C. O., Greene, B. A., & Mansell, R. A. (2006). Identification with academics, intrinsic/extrinsic motivation, and self-efficacy as predictors of cognitive engagement. *Learning and Individual Differences*, 16(1), 1–12.

Wang, C., & Song, L. (2014). The immune system and its modulation in bivalve molluscs. *Fish & Shellfish Immunology*, 46(1), 2-9.

Wang, Z., Wang, G. (2004). APD: the Antimicrobial Peptide Database. *Nucleic Acids Research*, 32(suppl_1), D590-D592.

Wells, M. J. (1998). The evolution of a racing snail. Oxford University Press, Oxford.

X

Xue, Q. G., Renault, T. (2000). Enzymatic activities in European flat oyster, *Ostrea edulis*, and Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, hemolymph. *Journal of Invertebrate Pathology*, 76(3), 155-163.

Xue, Q. G., Renault, T., Chilmonczyk, S. (2001). Flow cytometric assessment of haemocyte sub-populations in the European flat oyster, *Ostrea edulis*, haemolymph. *Fish & Shellfish Immunology*, 11(7), 557-567.

Z

Zaimeche S. (2015). Contribution à l'étude de l'action d'agents polluants sur des végétaux bioindicateurs. Thèse Doctorat. 171p.

Zardi G. I. , Nicastrò K. R. , McQuaid C. D. & Rius M. (2006) « *Hydrodynamic stress and habitat partitioning between indigenous (*Perna perna*) and invasive (*Mytilus galloprovincialis*) mussels: constraints of an evolutionary strategy* », *Marine Biology*, vol. 150, n° 1, 1^{er} octobre 2006, p. 79–88 (ISSN 1432-1793, DOI 10.1007/s00227-006-0328-y, lire en ligne [archive], consulté le 10 mars 2022)

Site web

[File:Aspect intérieur d'une moule.png — Wikimedia Commons](#)

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Valve-DorsalView_collored.svg?uselang=f