

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

**ÉTUDE DES INDICATEURS DE STRESS ET DE VITALITÉ CHEZ LES
MOLLUSQUES BIVALVES COMME OUTILS DIAGNOSTIQUES EN
CONCHYLICULTURE**

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

Comme exigence partielle du programme de maîtrise en océanographie

pour l'obtention du grade de

MAÎTRE ÈS SCIENCES (OCÉANOGRAPHIE)

par

RACHEL PICARD

Janvier 2009

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

« Océan : Masse d'eau occupant à peu près les deux tiers d'un monde destiné à l'homme, lequel est dépourvu de branchies. »

- Ambrose Bierce

REMERCIEMENTS

Je profite de cet avant-propos pour remercier mon directeur de maîtrise le Dr Réjean Tremblay pour m'avoir permis de réaliser ce projet et de m'avoir fait découvrir l'univers des mollusques bivalves. Merci pour le partage de tes connaissances, tes conseils, tes corrections et surtout pour ta patience, ta compréhension et ton humanisme. Merci pour l'encadrement teinté de confiance ainsi que pour ton soutien financier.

Je tiens également à remercier mon co-directeur le Dr Bruno Myrand. Merci pour ta rigueur scientifique, tes commentaires et corrections, l'accueil chaleureux au Centre maricole des Îles-de-la-Madeleine et surtout pour ta motivation contagieuse et ton aide si précieuse. Merci aussi de m'avoir fait découvrir les merveilleux et au combien délicieux décapodes des îles !

Je tiens à remercier le Réseau Aquaculture Québec (RAQ) pour son soutien financier.

Merci aussi à la Dr Céline Audet pour m'avoir si généreusement prêté son matériel ainsi que de m'avoir donné une formation sur leur utilisation.

Je remercie également le Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ) aux Îles-de-la-Madeleine pour les ressources matérielles, mais surtout pour les

ressources humaines. Merci à tous ces Madelinots d'origine et d'adoption qui m'ont aidé de près ou de loin.

Merci aussi à l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (IFREMER) et des gens du programme de mortalité estival (MOREST) de l'huître creuse de m'avoir permis d'assister à la synthèse finale du projet.

Je souhaiterais aussi remercier les membres de ma famille qui, malgré leur surprise à me voir désertier vers le nord-est de la province, m'ont toujours appuyée et montré de l'intérêt envers ma passion océanographique. En espérant que ce mémoire prouve à certains que l'océanographie va au-delà de la plongée sous-marine! Merci de m'avoir soutenue et de m'avoir répété sans cesse la recette TPP pour arriver à mes fins : Travail, Patience et Persévérance.

Finalement, je désire remercier mes amis et connaissances à travers le Québec et le monde qui m'ont toujours encouragée. Merci de m'avoir fait rire et de m'avoir supportée lors de mes moments de folie, merci surtout à ceux qui y ont participé !!! En plus d'un grade de maître ès sciences, cette maîtrise m'a surtout permis de faire de formidables rencontres qui resteront gravées à vie dans ma mémoire et dans mon cœur.

RÉSUMÉ DU MÉMOIRE

Les mollusques représentent un embranchement très diversifié dont la culture revêt une importance économique appréciable dans plusieurs régions du monde. Plusieurs épisodes de mortalité massive ont été répertoriés dans le monde chez les bivalves cultivés telle que l'huître creuse *Crassostrea gigas* en France et la moule bleue *Mytilus edulis* au Québec. Les différentes opérations conchylicoles ainsi que les conditions du milieu peuvent induire un stress plus ou moins important chez les bivalves. Ces stress cumulés peuvent mener à la mort des organismes. Il existe une multitude d'indicateurs disponibles pour informer de l'état de stress des mollusques bivalves. Ces indicateurs s'avèrent plus ou moins accessibles pour les conchyliculteurs puisqu'ils sont mal adaptés, nécessitent l'utilisation de moyens techniques très élaborés et demandent plusieurs jours d'évaluation. Le but de ce projet de maîtrise est de déterminer l'avancement des connaissances au niveau des mesures de stress et de vitalité chez les mollusques bivalves en effectuant tout d'abord une revue de littérature des différents types d'indicateurs disponibles à ce jour et finalement en testant le potentiel de deux indices comportementaux chez *Mytilus edulis* et *Mya arenaria*. Plusieurs types d'indicateurs existent à ce jour (métallothionéines, protéines de choc thermique, biomarqueurs de stress oxydant, biomarqueurs de génotoxicité, charge énergétique en adénylates, marqueurs immunologiques, marqueurs comportementaux, réserves énergétiques). L'utilisation d'un indice universel semble utopique. En effet, la combinaison d'indicateurs de niveaux différents semble donner des résultats plus justes quant à l'état global des organismes. Toutefois, il est essentiel d'avoir de bonnes connaissances du cycle

de vie des espèces étudiées ainsi que de connaître l'effet des différents facteurs biotiques et abiotiques à différents niveaux de leur organisme afin de bien interpréter les résultats observés. Les indices comportementaux pourraient donner des résultats rapides et à faibles coûts. Par contre, le nombre de byssus produits et la force par byssus de *Mytilus edulis* ainsi que le pourcentage d'individus complètement enfouis et le temps nécessaire pour commencer l'enfouissement chez *Mya arenaria* n'ont pas été affectés par une émergence de 78h à 100% d'humidité chez la moule et de 54h chez les myes. Dans le cas d'un stress causé par l'émergence, ces indicateurs comportementaux de vitalité n'ont pas été probants. Les réserves énergétiques (classes de lipides, glycogène et protéines) des moules n'ont démontré aucune variation suite à l'émergence. Ces deux espèces de bivalves semblent avoir développé une technique d'économie d'énergie lors de sessions d'émergence possiblement par dépression métabolique. Un événement stressant tel l'émergence en maintenant l'humidité autour de 100% ne provoque donc pas la consommation de leur énergie qui peut être utilisée lors d'une réimmersion subséquente. Les moules peuvent ainsi s'attacher au substrat efficacement et les myes peuvent s'enfouir dans le sable pour éviter les déplacements passifs et la prédation suite à des opérations conchyliques induisant des périodes d'émergence.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	i
RÉSUMÉ DU MÉMOIRE	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES	xii
CHAPITRE 1 : Introduction générale.....	1
1.1 Les mollusques	1
1.2 <i>Mytilus edulis</i>	6
1.3 <i>Mya arenaria</i>	14
1.4 Indicateurs de stress et de vitalité	19
1.5 But, objectifs et hypothèses	21
CHAPITRE 2 : Revue de littérature et fiches descriptives des différents indicateurs de stress et de vitalité utilisés chez les mollusques bivalves.....	23
2.1 Introduction aux indices de vitalité et de stress	24
2.2 Les métallothionéines (MT)	28
2.2.1. Introduction	28
2.2.2 Bivalves étudiés	29
2.2.3 Quelques méthodes d'analyse	29
2.2.4 Quelques résultats obtenus.....	30

2.2.5	Qualités/inconvénients du test.....	32
2.3	Protéines de choc thermique (HSP)	33
2.3.1	Introduction.....	33
2.3.2	Bivalves étudiées.....	34
2.3.3	Méthodes d'analyse.....	34
2.3.4	Quelques résultats obtenus.....	35
2.3.5	Qualités/inconvénients du test.....	36
2.4	Biomarqueurs du stress oxydant.....	37
2.4.1	Introduction.....	37
2.4.2	Bivalves étudiés	38
2.4.3	Quelques méthodes d'analyse	40
2.4.4	Quelques résultats obtenus.....	42
2.4.5	Qualités/inconvénients du test.....	43
2.5	Biomarqueurs de génotoxicité	45
2.5.1	Introduction.....	45
2.5.2	Bivalves étudiés	45
2.5.3	Méthodes d'analyse	46
2.5.4	Quelques résultats obtenus.....	47
2.5.5	Qualités/inconvénients du test.....	48
2.6	Charge énergétique en adénylates (CEA).....	50
2.6.1	Introduction	50
2.6.2	Bivalves étudiés	51

2.6.3 Méthodes d'analyse.....	51
2.6.4 Quelques résultats obtenus.....	52
2.6.5 Qualités/inconvénients du test.....	53
2.7 Marqueurs immunologiques.....	55
2.7.1 Introduction.....	55
2.7.2 Bivalves étudiés.....	56
2.7.3 Méthodes d'analyse.....	59
2.7.4 Quelques résultats obtenus.....	61
2.7.5 Qualités/inconvénients du test.....	66
2.8 Réserves énergétiques.....	68
2.8.1 Introduction.....	68
2.8.2 Bivalves étudiés.....	69
2.8.3 Quelques méthodes d'analyse.....	70
2.8.4 Quelques résultats obtenus.....	71
2.8.5 Qualités/inconvénients du test.....	72
2.9 Caractéristiques physiologiques de base.....	74
2.9.1 Introduction.....	74
2.9.2 Bivalves étudiés.....	75
2.9.3 Méthodes d'analyse.....	78
2.9.4 Quelques résultats obtenus.....	80
2.9.5 Qualités/inconvénients du test.....	82

2.10 Marqueurs comportementaux	84
2.10.1 Introduction.....	84
2.10.2 Bivalves étudiés	85
2.10.3 Méthodes d'analyse.....	87
2.10.4 Quelques résultats obtenus.....	89
2.10.5 Qualités/inconvénients du test.....	90
2.11 Conclusion	91

CHAPITRE 3: Testing two potential vitality indices: effects of air exposure on byssal characteristics of the blue mussel (*Mytilus edulis*) and on the burrowing behaviour of the softshell clam (*Mya arenaria*) after reimmersion

3.1 Introduction	94
3.2 Material and Methods	96
3.2.1 Mussels and clams collection and emersion.....	96
3.2.2 Tanks description.....	97
3.2.3 Water Analysis	97
3.2.4 Behavioural Analysis	98
3.2.4.1 Byssal threads formation by spat of blue mussels.....	98
3.2.4.2 Softshell Clams.....	102
3.2.5 Biochemical Analysis	102
3.2.6 Statistical Analysis	103
3.3 Results	104

3.3.1 Water Analysis	104
3.3.2 Behavioural Analysis	104
3.3.3 Biochemical Analysis	107
3.4 Discussion	112
3.5 Conclusion	116
CHAPITRE 4 : Discussion générale et perspectives.....	117
LISTE DE RÉFÉRENCES	122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Méthodes d'analyse pour la détection de l'activation des systèmes antioxydants	41
Tableau 2 : Protéines de choc thermique étudiées chez différents bivalves.....	34
Tableau 3 : Antioxydants et effets d'un choc oxydant étudiés chez différents bivalves	38
Tableau 4 : Méthodes d'analyse pour la détection de l'activation des systèmes antioxydants	41
Tableau 5 : Altérations de l'ADN utilisé comme indicateur de génotoxicité chez différents bivalves	45
Tableau 6 : Études portant sur la charge énergétique en adénylates chez différents bivalves.....	51
Tableau 7 : Indicateurs immunologiques étudiés chez quelques espèces de bivalves	56
Tableau 8 : Quelques études des réserves énergétiques chez quelques bivalves.....	69
Tableau 9 : Caractéristiques physiologiques de base comme indicateurs chez quelques bivalves.....	76
Tableau 10 : Indicateurs comportementaux étudiés chez quelques bivalves.....	86
Table 11: Description of the experimental specimens	97
Table 12: ANOVA results of the behavioural responses of <i>M. edulis</i> and <i>M. arenaria</i> between control and different times of air exposition	106
Table 13: ANOVA results of the biochemical responses of <i>M. edulis</i> to a 78 hours air exposure according to tissues.....	110

Table 14: ANOVA results of the biochemical responses of <i>M. arenaria</i> to a 54 hours air exposure according to tissues.....	111
Table 15: Average values and standard error of the different biochemical parameters analysed in the digestive gland and in all the other tissues of <i>M. edulis</i> and <i>M. arenaria</i>.....	112

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Organisation de l'archétype hypothétique des mollusques.....	1
Figure 2 : Volume de production de moules au Québec par rapport au reste du Canada de 1986 à 2006, excluant les données confidentielles au niveau canadien	5
Figure 3 : Anatomie de la moule	7
Figure 4 : Schéma de la structure des byssus. A. Coupe d'une moule illustrant les byssus et la musculature principale. B. Parties d'un filament	9
Figure 5 : Schéma du système de lignes flottantes immergées en mytiliculture	12
Figure 6 : Anatomie interne de <i>Mya arenaria</i>	15
Figure 7: <i>M. edulis</i> or <i>M. arenaria</i> in the Magdalen Islands, Québec, Canada	98
Figure 8: Perpendicular plates system used to measure the mussels attachment strength.....	100
Figure 9: Overall plate system in an experimental tank for mussels reimmersion.....	100
Figure 10: Attachment strength setting	102
Figure 11: Number of byssal threads produced and force per byssal thread in control mussels and mussels air exposed for different times	107
Figure 12: Burrowing starting time of <i>M. arenaria</i> when remerged for four hours after different air exposition.....	108

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 LES MOLLUSQUES

Les mollusques constituent l'un des embranchements du règne animal dont les espèces sont des plus diversifiées tant au niveau de la taille, de l'habitat, du mode de vie et de l'organisation anatomique (Martoja, 1995; Pechenik, 2005). Ils sont si différents sur ce dernier point qu'un modèle (l'archétype) réunissant les caractères les plus primitifs observés dans chaque classe a dû être imaginé pour représenter les différentes caractéristiques du phylum (Figure 1). Le corps des mollusques est essentiellement composé de deux parties communes à l'ensemble de l'embranchement : le céphalopodium pour la partie musculuse et mobile (à la fois la tête et le pied) ainsi que le viscéropallium pour la partie viscérale entourée du manteau (Martoja, 1995).

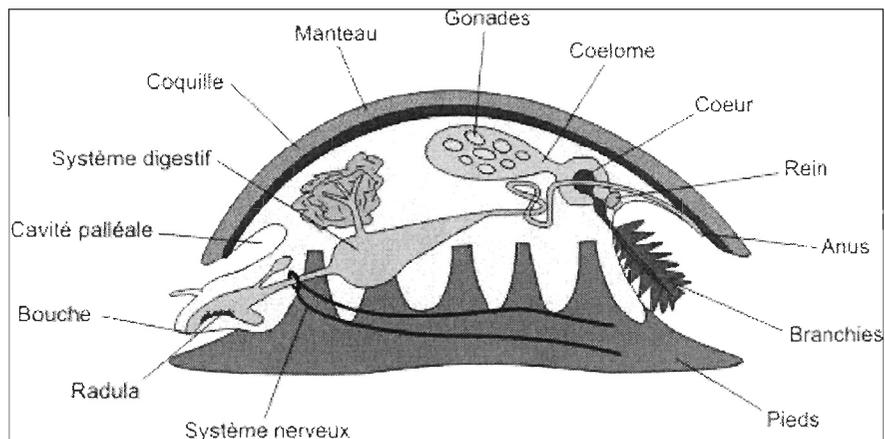


Figure 1: Organisation de l'archétype hypothétique des mollusques (Tirée de l'Université Libre de Bruxelles, 2008)

Certains mollusques possèdent une radula qui est composée de petites dents chitineuses recourbées qui leur permet de brouter. L'estomac est adapté pour digérer de petites particules alimentaires. À l'estomac se lie la glande digestive. Cette glande a un rôle dans l'emmagasiner des réserves énergétiques. Sa composition biochimique varie selon les saisons et les stress physiologiques associés à la gamétogenèse et au manque de nourriture.

La plupart des mollusques possèdent un pied musculeux et une coquille calcaire sécrétée par le manteau. Plusieurs paires de branchies (bipectinées) composées de filaments aplatis et ciliés se trouvent dans la cavité palléale. L'axe de la branchie est parcouru de deux vaisseaux sanguins, l'un apportant le sang venu du corps et l'autre apportant le sang artériel oxygéné au cœur. Le système vasculaire est ouvert, c'est-à-dire que le sang baigne les organes sans être canalisé dans des capillaires. Le sang passe des branchies vers les oreillettes et poursuit vers le ventricule central où il est pompé par l'aorte vers les différents sinus tissulaires. Le sang revient aux branchies en passant par le rein où il est débarrassé de certains déchets. Le sang occupe un volume important et il est utilisé comme squelette hydraulique pour assurer la rigidité des parties molles, comme le pied par exemple. Le système nerveux des mollusques consiste en un centre nerveux circumoesophagien d'où partent le cordon pleuro-viscéral innervant la masse viscérale et le manteau ainsi que le cordon pédieux innervant le pied. Les organes sensoriels sont les organes de sélection des particules, les statocystes, les yeux et les osphradies. Les mollusques sont généralement dioïques avec une paire de gonades dans la masse viscérale. Les gamètes sont libérés dans le coelom et passent par les reins qui font office de gonoductes. La fécondation est externe

et le développement larvaire est généralement planctonique (Ruppert et Barnes, 1991) bien qu'il existe certaines espèces vivipares dont les mollusques de la famille des Sphaeridae et certains gastéropodes (*Littorina saxatilis* et *L. obtusata*) (Frédéric Olivier, Comm. Pers., 2008). Il existe jusqu'à maintenant sept classes de mollusques dont les plus importants sont les bivalves (20 000 espèces), les gastéropodes (80 000 espèces) et les céphalopodes (700 espèces) (Martoja, 1995). C'est à ces trois classes qu'appartiennent les mollusques ayant un intérêt économique, médical ou esthétique.

Les différentes espèces de bivalves montrent également de très grandes variations morphologiques. En général, ils sont comprimés latéralement et possèdent une coquille enveloppant la totalité du corps et composée de deux valves jointes dorsalement par un ligament (Martoja, 1995). Chacune des valves présente généralement une saillie près du ligament : l'umbo. Les muscles adducteurs postérieur et antérieur joignent les deux valves et permettent de les refermer. Le pied localisé en position ventrale est également comprimé latéralement. La cavité palléale est la plus grande de tous les mollusques. Les branchies sont habituellement très développées et assument les fonctions de collecteurs de nourriture en plus d'être le site des échanges gazeux. Bien que les espèces de bivalves aient conquis plusieurs types d'habitats, la plupart de ces caractéristiques adaptatives en ont fait des animaux majoritairement sédentaires (Fretter, 1968). La classe des bivalves comprend trois sous-classes départagées selon la nature de leurs branchies : les protobranches, les septibranches et les lamelibranches. Ce dernier groupe renferme la majorité des espèces de bivalves comme les moules et les myes (Martoja, 1995; Pechenik, 2005).

Au-delà de la comestibilité de certaines espèces et de leurs qualités gustatives appréciées par les sociétés humaines depuis des millénaires, les bivalves sont de bons candidats en aquaculture puisqu'ils peuvent être cultivés selon des techniques assez simples et parce que ce sont des organismes qui se nourrissent en filtrant le phytoplancton ainsi que la matière organique (particulaire et dissoute) présents dans l'eau environnante. Ainsi, peu d'investissement monétaire est nécessaire pour leur alimentation (Lucas et Southgate, 2003). Leur culture n'est pas un phénomène nouveau si on considère que les huîtres étaient déjà cultivées par les Romains et que la culture des moules a commencé en Europe il y a plus de 700 ans (Jeffs *et al.*, 1999). L'aquaculture, donc l'élevage de poissons, mollusques, crustacés et plantes aquatiques (FAO, 2008), s'est par la suite développée dans le monde entier. En 2006, les huîtres supportaient une production aquacole mondiale de 4 714 215 T, les moules de 1 890 131 T, les coquilles St-Jacques de 1 408 153 T et les clams, coques et arches de 4 310 488 T (FAO, 2006). De nos jours, l'espèce de bivalves la plus cultivée au niveau mondial est l'huître *Crassostrea gigas* avec 4 497 085 T, suivie de la palourde *Ruditapes phillipinarum* (2 946 900 T), du pétoncle *Patinopecten yessoensis* (1 239 811 T), de *Sinonovacula constricta* (713 846 T), de *Anadara granosa* (436 924 T) et de la moule *Mytilus edulis* (391 210 T) (FAO, 2008).

Au Canada, l'aquaculture (poissons et mollusques) a tout d'abord vu le jour dans le but d'améliorer les stocks naturels (Boghen, 1995), mais elle est maintenant devenue une industrie commerciale répandue dans l'ensemble des provinces et territoires induisant des retombées économiques pour de nombreuses régions. Cette commercialisation remonte aux

années 1950 lorsqu'on s'intéressait à la truite ainsi qu'à l'huître (MPO, 2008). La production s'est ensuite élargie au cours des 20 dernières années avec l'ajout de plusieurs espèces de saumons et des moules. Depuis les années 90, la production de moules a largement augmenté au Canada (Figure 2) et ce, principalement du côté des provinces de l'Île-du-Prince-Édouard et de Terre-Neuve.

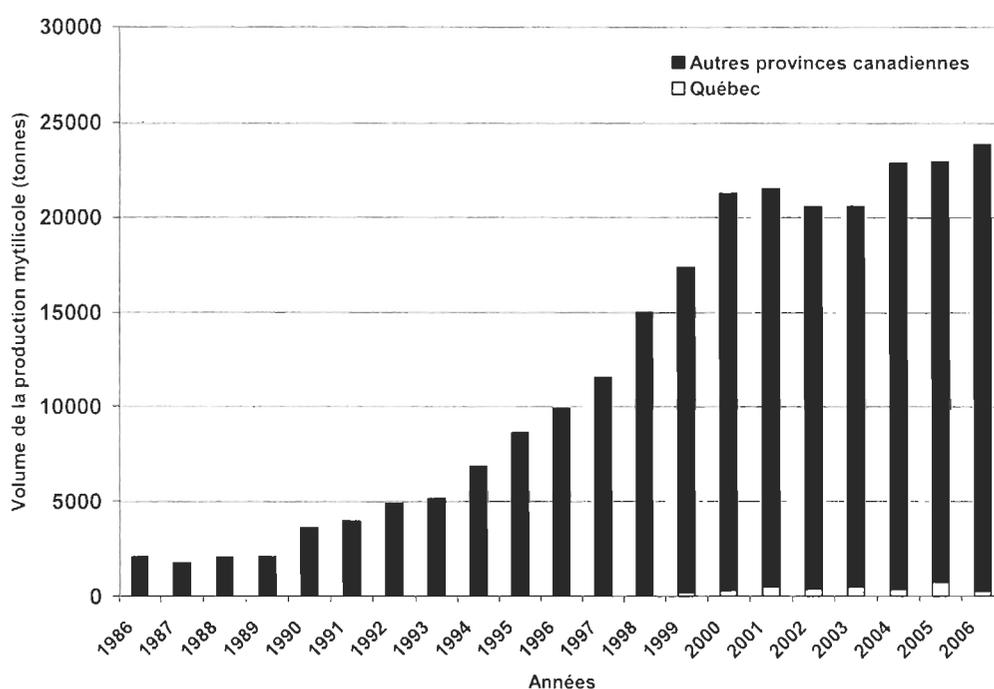


Figure 2 : Volume de production de moules au Québec par rapport au reste du Canada de 1986 à 2006, excluant les données confidentielles au niveau canadien (Données tirées de Statistiques Canada, 2008)

Les moules bleues sont les mollusques les plus abondamment cultivés au Canada (MPO, 2008) puisqu'elles possèdent des caractéristiques encourageant leur mise en culture. En effet, elles sont très résistantes aux variations de température et de salinité, elles sont des filtreurs très efficaces ce qui favorise une croissance rapide et leur rendement en chair

(poids en chair/poids total) est intéressant (Richard et Myrand, 1984). Les techniques d'élevage sont aussi relativement simples.

1.2 *Mytilus edulis*

La moule bleue, *Mytilus edulis*, fait partie de la sous-classe des lamellibranches et de la famille des Mytilidae. Sa coquille est pointue à sa partie céphalique et arrondie à sa partie postérieure. Les deux valves sont identiques et unies par un ligament le long de la charnière dorsale. L'intérieur bleuâtre et lisse des valves possède des points d'insertion des muscles adducteurs antérieur et postérieur reliant le corps à la coquille, les muscles rétracteurs antérieur et postérieur du pied et le muscle du siphon anal. Les muscles adducteurs assurent la fermeture des valves. L'agitation soudaine de l'eau, les variations de luminosité, la présence d'un ennemi naturel, le manque de nourriture, l'exposition à l'air et au soleil provoquent la fermeture des valves en un réflexe de protection (Richard et Myrand, 1984).

Le siphon inhalant sert à aspirer l'eau et le plancton qui s'y trouve pour l'alimentation de la moule. Ce sont les cils présents sur les branchies qui assurent la circulation de l'eau nécessaire à l'alimentation en plus de la respiration. Les particules trop grosses pour être ingérées sont rejetées sous forme de pseudo-fèces par le siphon exhalant faisant saillie dans la partie postérieure. Le manteau a un rôle dans l'accumulation des réserves, mais son rôle principal est d'assurer la formation de la coquille. De plus, le manteau forme l'essentiel de la glande reproductrice (gamètes) et est donc un organe majeur impliqué dans la

reproduction. Son corps comporte des organes de respiration, de digestion et de reproduction, tout comme le modèle de l'archétype.

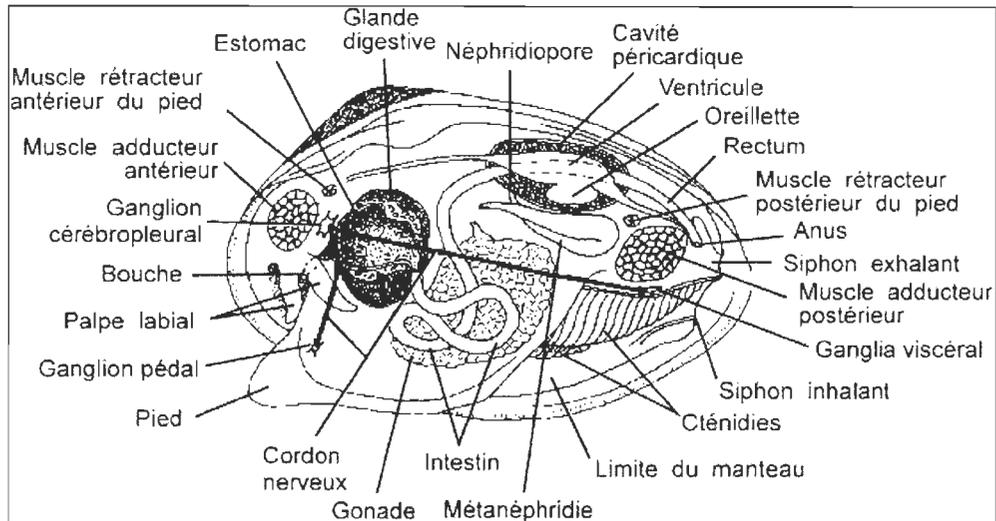


Figure 3 : Anatomie de la moule (Image modifiée de Université d'Ottawa, 2008)

La moule bleue est retrouvée dans la zone intertidale et en zone peu profonde, dans les eaux boréales et tempérées des hémisphères Nord et Sud (Soot-Ryen, 1969). Dans l'hémisphère Nord, sa distribution s'étend des eaux arctiques à la Californie et au Japon (Miyazaki, 1938) sur la côte du Pacifique (Dodge, 1952) et jusqu'en Caroline du Nord sur la côte Atlantique (McDougal, 1943; Dodge, 1952). Le facteur limitant sa distribution est la température, la limite sud correspondant à une température des eaux de surface d'environ 27 °C (Hutchins, 1927; Stubbings, 1954).

Les moules vivent en populations denses sur une variété de substrats fermes (cailloux, roches, coquilles vides, sable ou boue compact, bateaux, ports, piliers). Elles ont en effet la capacité de s'y attacher et de s'orienter par rapport au courant grâce à la sécrétion de

byssus. Le byssus est constitué de minces filaments majoritairement composés de collagène secrétés par la glande byssale localisée dans le pied de la moule et qui s'ancre solidement au substrat pour contrer le délogement occasionné par l'hydrodynamisme du milieu. Le pied est une saillie musculaire localisée au-dessus de la masse viscérale et comprend la glande byssogène qui forme un sillon entouré d'une épaisse couche de cellules glandulaires. Ce sillon aboutit à une cavité byssogène s'ouvrant vers l'extérieur par le pore pédieux (Figure 3). Le collagène confère une grande résistance aux filaments de byssus. Ceux-ci sont aussi très élastiques ce qui leur permet de se déformer tout en ayant une bonne résilience. Cette résistance et cette élasticité permettent aux moules de s'ancrer solidement et de survivre dans leur milieu (Price, 1983; Waite, 1983; Coyne *et al.*, 1997; Gosline *et al.*, 2002)

Un filament byssal se compose de trois parties : la partie proximale, la partie distale et la plaque adhésive (Figure 4). L'extrémité proximale (la plus près de la moule) est supportée par la colonne située sur la face ventrale de la moule. La colonne est rattachée à la racine localisée dans la région basale du pied et est reliée aux muscles rétracteurs des filaments (Bell et Gosline, 1997).

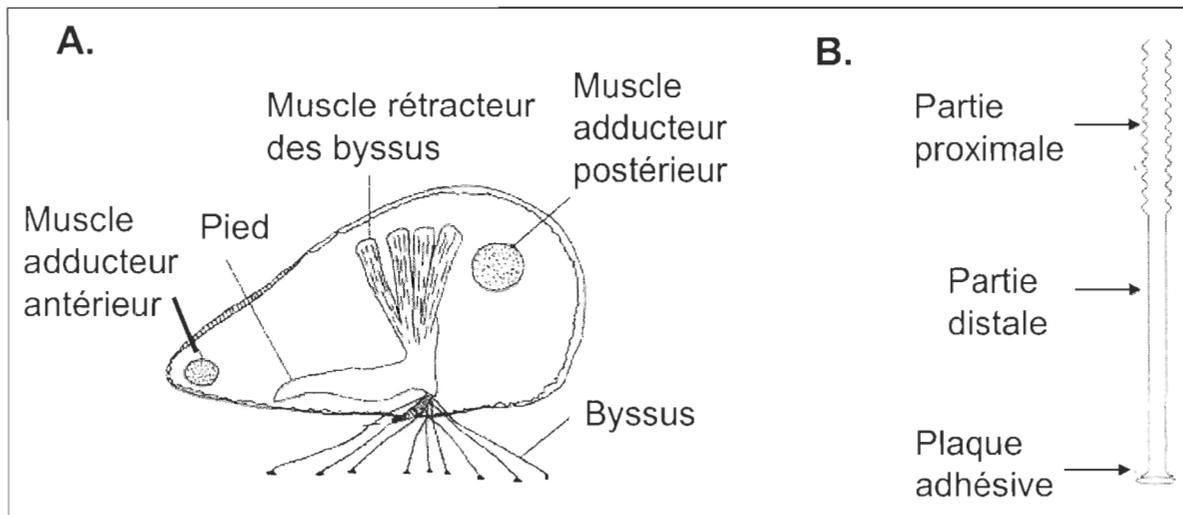


Figure 4 : Schéma de la structure des byssus. A. Coupe d'une moule illustrant les byssus et la musculature principale. B. Parties d'un filament (Image modifiée de Carrington, 2002a)

Le processus de formation des filaments débute par la sortie du pied hors de la coquille. Au contact d'une surface propice à un bon ancrage, l'extrémité du pied s'affaisse puis s'immobilise contre la surface pendant 1 à 2 minutes. La glande byssale sécrète alors une substance blanche dans le canal ventral du pied. Ce canal est relié à une dépression distale à son extrémité où s'accumulera la sécrétion. C'est cette accumulation de substance blanche adhésive qui formera la plaque adhésive sur le substrat. À l'intérieur du canal, la substance blanche durcit et forme les parties distales et proximales du filament. Cette dernière est liée à la colonne, point regroupant l'ensemble des byssus nouvellement synthétisés. Finalement, le pied se relâche et libère le byssus nouvellement formé. Le pied peut faire un nouveau filament en moins de 5 minutes (Coyne *et al.*, 1997). En 24 heures, la moule peut former le nombre de filaments nécessaires à son attachement. Après cette période, la production diminue et le nombre total dépend essentiellement des conditions du milieu (Mahéo, 1970), mais se situe habituellement entre 20 et 60 (Bell et Gosline, 1997). La force d'attachement

des moules au substrat varie selon plusieurs facteurs dont la quantité de filaments produits et aussi leur force individuelle (Bell et Gosline, 1997). La force d'attachement augmente en périphérie du banc de moules et elle semble aussi augmenter avec la température jusqu'à 25°C, les courants, l'agitation de l'eau, la turbidité et la présence de prédateurs (Witman et Suchanek, 1984; Young, 1985; Lee *et al.*, 1990; Carrington-Bell et Denny, 1994; Dolmer et Svane, 1994; Cote, 1995; Bell et Gosline, 1997; Dolmer, 1998; Selin et Vekhova, 2004; Alfaro, 2006; Lachance *et al.*, 2008). Le nombre de filaments secrétés diminue en cas de dessalure ainsi qu'en période de jeûne (Van Winkle, 1970; Allen *et al.*, 1976; Price, 1980; Young, 1985; Clarke, 1999; Selin et Vekhova, 2004). La condition de reproduction influence aussi la force d'attachement des moules (Price, 1980; Hunt et Scheibling, 2002; Carrington, 2002a; Lachance *et al.*, 2008). Les byssus ne sont pas éternels. Ils ont une durée de vie d'environ 4 à 6 semaines (Carrington, 2002b), mais la force et la rigidité s'altèrent significativement après 25 jours (Price, 1980). Cette dégradation est accélérée ou ralentie en fonction de la saison (Moeser et Carrington, 2006). La production de byssus représente environ 8% de la dépense énergétique totale d'une moule adulte (Griffiths et King, 1979; Hawkins et Bayne, 1985). La moule peut se détacher du substrat en brisant ses filaments par traction musculaire puis se déplace en rampant sur le substrat grâce à son pied (Mahéo, 1970). Ces comportements lui permettent de changer de milieu en réponse à une dégradation des conditions environnementales (Mahéo, 1970; Price, 1983; Lee *et al.*, 1990; Hunt et Scheibling, 2002).

Dans les eaux marines québécoises, la moule bleue peut se reproduire dès l'âge d'un an. La ponte, stimulée par la température de l'eau au-delà de 10 à 12 °C (Boghen, 1995), survient au printemps et au début de l'été. Elle est suivie par un nouveau développement de gamètes qui peut permettre une seconde ponte plus tard en saison (Bayne, 1976; Richard et Myrand, 1984; Newell *et al.*, 1991). Une seule femelle adulte peut pondre 5 à 12 millions d'œufs par année (Richard et Myrand, 1984). La fécondité fluctue selon la disponibilité de la nourriture (Seed et Suchanek, 1992). La fécondation a lieu dans la masse d'eau puis l'embryon formé est rapidement différencié en larve. Cette phase de développement larvaire planctonique, trochophore puis véligère, durera 3 à 4 semaines selon la température, la salinité et la disponibilité de nourriture de qualité (Bayne, 1965; Boghen, 1995). Bien que capable de migrations verticales, la larve planctonique est à la merci des courants et peut être transportée loin de la zone de ponte. Vers 250 μm , la larve possède un pied qu'elle peut utiliser pour s'ancrer à un substrat favorable. Pendant cette phase plantigrade, elle se fixe temporairement sur un support généralement filamenteux telles les algues puis se métamorphose en juvénile (Seed et Richardson, 1999; Nishida *et al.*, 2003; Alfaro, 2006). Le contact avec le substrat stimule un comportement de reptation suivi d'une sécrétion de byssus. Environ quatre semaines plus tard, la larve migre vers les moulières afin de s'y fixer définitivement (Bayne, 1976; Newell, 1989). Des milliers de jeunes moules nommées naissain sont alors retrouvées accrochées au byssus des adultes et les unes aux autres.

En mytiliculture, la connaissance de ce cycle vital est essentielle pour le développement de bonnes techniques de production de la captation des larves à la récolte finale des moules adultes destinées à la vente en passant par leur croissance. Plusieurs types de techniques très diversifiées sont utilisées dans le monde. Aux Pays-Bas et en Nouvelle-Angleterre, les moules sont généralement cultivées sur le fond (Bayne, 1976). En France, elles sont cultivées sur des pieux plantés en zone intertidale appelés bouchots (Bayne, 1976). En Espagne, les moules sont principalement cultivées en suspension dans l'eau sur des cordes suspendues à des radeaux. Au Canada, en Nouvelle-Zélande et en Irlande, les moules sont cultivées sur des lignes flottantes immergées (*longline system*) (Hickman, 1992). Cette technique permet le maintien des lignes flottantes sous la couche de glace qui se forme l'hiver, tout en protégeant les structures d'élevage du vent le reste de l'année. Le système des lignes flottantes consiste en une ligne principale immergée (la filière) ancrée au fond de l'eau à chacune de ses extrémités et maintenue dans la colonne d'eau grâce à des bouées de flottaison. Plusieurs boudins de moules et de collecteurs peuvent y être rattachés (Figure 5).

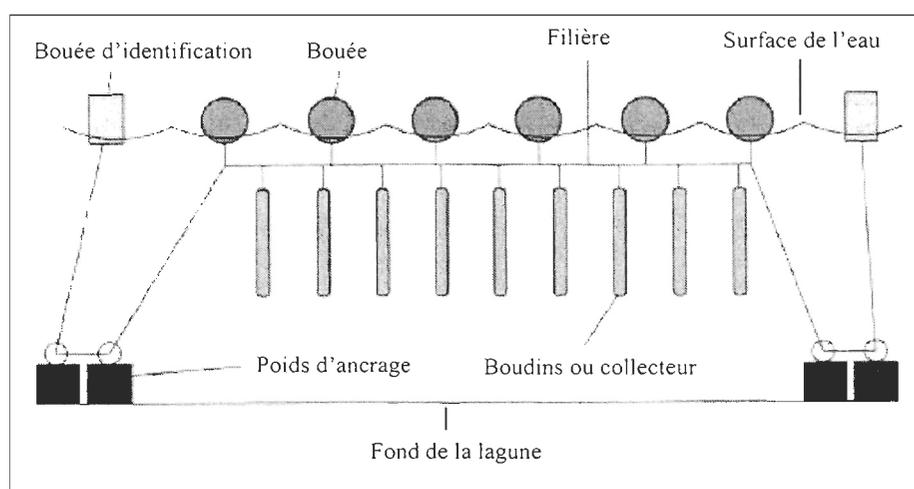


Figure 5 : Schéma du système de lignes flottantes immergées en mytiliculture (Image modifiée de Boghen, 1995)

Les collecteurs constitués de cordage servent de substrat pour la fixation des larves de moules avant leur métamorphose. Ils sont installés là où il y a une bonne production larvaire. Les collecteurs se trouvent ensuite abondamment garnis de naissain. Lorsque les juvéniles ont atteint 5 à 30 mm, ils sont détachés des collecteurs en vue de l'étape subséquente de boudinage; phase au cours de laquelle les juvéniles sont mis dans un filet tubulaire à l'intérieur duquel se trouve une corde de polypropylène. Les jeunes moules vont alors sécréter des filaments sur les mailles et leurs voisines pour s'attacher et former le boudin. Les boudins sont ensuite attachés à la filière pour la phase de croissance. Environ 2 années plus tard, les moules auront atteint la taille commerciale de 50 mm et seront récoltées puis mises en marché. Au Québec, le boudinage se fait mécaniquement et en continu, c'est-à-dire qu'il n'y a qu'un seul boudin très long qui est accroché à intervalles réguliers à la filière en suspension plutôt que d'avoir plusieurs boudins individuels (CSMOPM, 2008). Jusqu'à récemment, il était assumé que *Mytilus edulis* était la seule espèce de moules cultivée au Canada Atlantique. Or, les études génétiques ont démontré qu'une deuxième espèce, *Mytilus trossolus*, colonisait aussi les élevages (McDonald *et al.*, 1991; Zouros *et al.*, 1992; Tremblay *et al.*, 1998a; Moreau *et al.*, 2005). Ces deux espèces sont très similaires bien qu'elles aient certaines caractéristiques très différentes. Par exemple, il a été démontré en Nouvelle-Écosse et à Terre-Neuve que la coquille de *M. trossolus* est plus fine et plus fragile ce qui la rend plus vulnérable au bris lors des manipulations commerciales (Boghen, 1995; Mallet et Carver, 1995; Penney *et al.*, 2007). De plus, cette espèce aurait une croissance inférieure à *M. edulis*, ce qui la rend moins avantageuse économiquement (Mallet et Carver, 1993; Mallet et Carver, 1995; Penney *et*

al., 2006). Aux Îles-de-la-Madeleine, *M. edulis* domine la production mytilicole à plus de 95% (Tremblay *et al.*, 1998a). Ainsi, dans la présente étude, *M. edulis* sera la seule espèce de moule considérée lors des tests comportementaux.

1.3 *Mya arenaria*

Outre la moule bleue, de nouvelles espèces de bivalves font partie des programmes de recherche et de développement pour l'aquaculture. C'est le cas de la mye commune (*Mya arenaria*) dont le marché est en pleine croissance et dont l'élevage, la myiculture, semble offrir un potentiel maricole intéressant (SODIM, 2003) pour le Québec maritime. Depuis 2000, cette espèce fait l'objet d'un projet pilote appelé « programme MIM » (Myiculture aux Îles-de-la-Madeleine) mené au Centre maricole des Îles-de-la-Madeleine (CeMIM) en appui à l'entreprise « Élevage de myes PGS Noël inc. » aux Îles-de-la-Madeleine.

Ce bivalve de la famille des Myidae se retrouve sur les côtes Ouest et Est de l'Atlantique Nord, de la Caroline du Nord au Labrador. Elle a été introduite dans le Pacifique et se retrouve maintenant de la Californie à l'Alaska (Lubinsky, 1980; Abbott *et al.*, 1982). C'est une espèce eurytherme et euryhaline. Elle est retrouvée en zone intertidale et subtidale jusqu'à une profondeur de 200 m enfouie dans les sédiments à une profondeur pouvant atteindre 10 cm. La distribution des populations de myes s'explique par la grégarité des larves, par la pression des prédateurs ainsi que par l'hydrodynamisme du milieu (Newell, 1991). Les myes ont une coquille elliptique de couleur blanchâtre et noirâtre pouvant

atteindre une longueur de 12-15 cm (Vlès, 1909; Potts, 1993). Elles pompent l'eau à l'aide de leur siphon contractile constitué de deux siphons soudés : l'inhalant (bordé de tentacules) qui pompe l'eau et la nourriture et l'exhalant qui rejette les particules indésirables et les fèces. Ils lui servent à s'alimenter à la surface du sédiment et à faire circuler l'eau vers les branchies pour la respiration. Ces siphons peuvent être jusqu'à trois fois la longueur de la mye (Pariseau, 2003). Le pied est petit et musculeux et s'étire à partir de la partie antérieure. Les deux valves de la coquille sont jointes par un ligament et sont fusionnées par les lobes du manteau excepté aux ouvertures pour le pied et le siphon. L'anatomie interne de la mye ressemble à celle des autres bivalves avec des systèmes digestif, reproducteur et circulatoire ouvert (Figure 6).

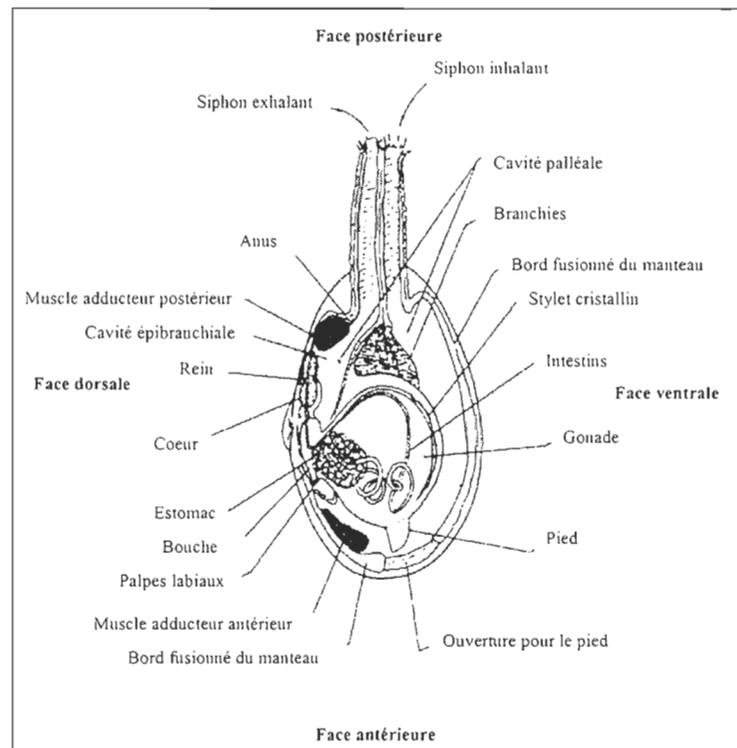


Figure 6 : Anatomie interne de *Mya arenaria* (Image modifiée de Hanks, 1963)

Une mye atteint sa maturité après 2 ou 3 ans lorsque la coquille atteint environ 30 mm. La ponte est stimulée lorsque la température de l'eau atteint 10 à 12 °C. Les gamètes sont expulsés par le siphon. Tout comme chez la moule, la fécondation est externe. L'embryon passe ensuite par le stade de larve véligère qui dure de 14 à 21 jours selon la température de l'eau (Menzel, 2000). Par la suite, la larve se métamorphose en mye juvénile et s'attache de façon éphémère avec un byssus à un substrat filamenteux comme les algues de la zone subtidale. Cette fixation est stimulée par le fluide palléal dégagé par les myes adultes (Manzi et Castagna, 1989). Aidée par son pied, la mye juvénile entre alors dans une phase de nage et de reptation pendant 2 à 5 semaines (Manzi et Castagna, 1989; Menzel, 2000). Après ce temps, les jeunes myes s'enfouissent dans le sédiment. À 5 mm, elles sont considérées comme étant du naissain.

L'enfouissement entraîne une dépense énergétique importante pour la mye (Pariseau *et al.*, 2008). Le cycle de l'enfouissement est composé de plusieurs phases de protraction et de rétraction du pied accompagnées de mouvements valvaires (Trueman, 1968). Un système d'interactions entre fluide et muscles permet l'utilisation de la force musculaire pour l'enfouissement. Ce système utilise deux chambres (l'hémocèle et la cavité palléale) remplies de fluide. Ces chambres subissent simultanément de fortes pressions générées par l'adduction des muscles. Dans l'hémocèle, la pression permet au pied de se dilater assurant ainsi un ancrage au sédiment. Lors de la rétraction du pied, la coquille s'affaisse sur le sédiment. Simultanément, dans la cavité palléale, la pression forme des jets d'eau puissants qui assistent le mouvement descendant de la coquille en écartant le sable sous-jacent. Par la

suite, le pied est protracté et s'insère dans le sédiment grâce à sa musculature à une faible pression hydrostatique pendant que la coquille se maintient en place par le ligament élastique pressant les valves contre le substrat. Ce cycle recommence jusqu'à ce que la mye soit complètement enfouie (Trueman, 1968; Pérès, 1976; Checa et Cadée, 1997). La vitesse d'enfouissement des myes varie selon plusieurs facteurs comme la température (Pfitzenmeyer et Drobeck, 1967), leur taille (Pfitzenmeyer et Drobeck, 1967; Emerson, 1990; Zaklan et Ydenberg, 1997) et la période de l'année (Pariseau *et al.*, 2008).

Le programme MIM a vu le jour en 2000, au tout début de l'industrie myicole pour répondre à ses besoins en recherche et développement. Ce programme a permis de concevoir un schéma de production myicole basé sur un cycle de 4 à 6 ans. Grâce à ce programme, une quantité importante d'information est maintenant disponible et utile pour le développement myicole aux îles-de-la-Madeleine et dans le monde.

Dans le cadre du projet MIM, plusieurs phases opérationnelles myicoles ont été analysées dont la capture de juvéniles, le prégrossissement, l'ensemencement et la récolte des individus ayant atteint une taille commerciale. Ce programme a validé entre autre la possibilité de transférer du naissain de myes d'un site de captage vers des sites d'ensemencement plus propices à la croissance en plus d'évaluer le potentiel d'approvisionnement de plusieurs sites aux Îles-de-la-Madeleine (Chevarie *et al.*, 2003). La méthode d'approvisionnement par captage benthique à l'aide de tapis Astro-turf dans la lagune de Havre-aux-Maisons a donnée de très bons résultats en terme de densité de larves

s'y étant fixées et de récurrences des résultats au fil des années. Il existe donc un potentiel à l'échelle commerciale pour un tel mode de captage. Par contre, un nouveau scénario pointe à l'horizon. Le captage pélagique de myes juvéniles à l'aide de cages pourrait contribuer à atteindre une rentabilité économique plus facilement. Le prégrossissement des myes dans des upwellers a également donné de très bons résultats avec une croissance moyenne de 0,6 mm par semaine. L'utilisation d'une telle technique à plus grande échelle reste à être démontrée pour évaluer son potentiel réel. Les jeunes myes (25-30 mm) sont ensuiteensemencées à marée basse dans des zones de forte croissance. Pour cet ensemencement, elles sont déposées directement sur le substrat. Elles doivent ensuite s'enfouir dans le sédiment. À ce moment, elles peuvent être la proie de nombreux prédateurs comme les oiseaux, les poissons, les étoiles de mer, les crabes, la lunatie de l'Atlantique, les vers németes et la crevette de sable. De plus, les myes peuvent être entraînées par les courants lors de la marée ou les vents. Elles peuvent aussi être victime de dessiccation lors de l'exposition à l'air à marée basse. La vitesse d'enfouissement joue donc un rôle primordial dans la rentabilité de cette production. Si elles réussissent à s'enfouir, les myes peuvent atteindre une taille commerciale de 51 mm en environ 2 ans en conditions optimales. L'étape la moins bien maîtrisée est l'ensemencement du naissain et sa croissance puisque les taux de récupération sont insatisfaisants occasionnant des pertes allant jusqu'à 80% après 2 à 3 ans d'opérations. Des essais impliquant le recouvrement des parcellesensemencées avec des filets de protection pendant plusieurs semaines ont permis de récupérer jusqu'à 90% des myes. Ces filets permettent de contrer la prédation sur les jeunes myes ainsi que leur déplacement passif par les courants (Chevarie et Myrand, 2007).

1.4 INDICATEURS DE STRESS ET DE VITALITÉ

Plusieurs épisodes de mortalité massive ont été répertoriés dans le monde chez les bivalves cultivés tel que *Crassostrea gigas* en France (Glude, 1974, Koganezawa, 1974; Gouletquer *et al.*, 1998; Cheney *et al.*, 2000; Samain *et al.*, 2007) et *Haliotis diversicolor* en Chine (Cai *et al.*, 2006). Au Québec, les premières mentions de mortalités massives estivales des moules bleues (*Mytilus edulis*) aux Îles-de-la-Madeleine remontent à 1975 (Poirier et Myrand, 1982). Ces mortalités ont des effets dévastateurs puisqu'elles peuvent dessimer 80 % des moules d'élevage. Plusieurs facteurs pouvant expliquer de telles mortalités massives ont été examinés dont les pathogènes, les hautes températures (au-delà de 20°C), la diminution de la nourriture, la sensibilité thermique et la reproduction (Myrand et Gaudreault, 1995; Tremblay *et al.*, 1998c,d). C'est la synergie entre ces différents facteurs qui cause un stress chez les individus pouvant causer leur mort. Dans le cas des moules bleues des Îles-de-la-Madeleine, c'est la synergie entre l'effort reproductif et l'augmentation des températures qui causent les épisodes de mortalité massive. Suite aux pontes majeures, les moules s'en trouvent affaiblies et sont alors plus sensibles à ces variations de température (Myrand *et al.*, 2000).

Les différentes opérations conchyloles ainsi que les conditions du milieu peuvent induire des conditions stressantes plus ou moins importantes chez les bivalves. Le stress cumulé peut atteindre différents niveaux et mener éventuellement à la mort des organismes. En plus d'être potentiellement mortels, les facteurs de stress peuvent influencer la vitalité des

bivalves. Lorsque cette vitalité se trouve diminuée, le comportement des individus est altéré ce qui peut mener encore une fois à la mort.

Il importe aux mariculteurs de bien connaître l'état de stress de leurs organismes en élevage pour ajuster leurs opérations de façon à en minimiser l'importance. Une panoplie d'indicateurs permet de diagnostiquer l'état de stress des mollusques bivalves. Ces indicateurs sont de nature très variée : comportementale, physiologique, organique, tissulaire et cellulaire ainsi que biochimique. La plupart s'avère plus ou moins efficace pour les besoins des conchyliculteurs puisqu'ils nécessitent l'utilisation de moyens techniques très élaborés ainsi qu'une expertise spécialisée et la réponse demande souvent plusieurs jours d'attente. Les résultats obtenus sont souvent difficiles à interpréter dans un contexte maricole. Par exemple, comment interpréter une valeur caractérisant le niveau d'immuno-compétence en fonction de la production maricole ? L'efficacité dépend aussi de la sensibilité ainsi que de la reproductibilité des tests. De plus, ces derniers doivent être accessibles quant aux coûts encourus, facilement utilisables ainsi que non létaux. Finalement, un bon indicateur permettra d'obtenir des réponses sur l'état de stress des bivalves en peu de temps.

1.5 BUT, OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

Le but de ce projet de maîtrise est de recenser les informations pertinentes concernant les tests de mesure de stress et de vitalité en conchyliculture. Le premier objectif est de faire une revue des différents types d'indicateurs existants à ce jour et de les caractériser quant à leur qualité globale en tant qu'indices de la vitalité des bivalves pour les opérations conchylicoles. L'utilisation d'indices comportementaux s'avère intéressante puisqu'ils sont généralement plus simples et moins coûteux que les autres types d'indices de vitalité. Un deuxième objectif est de tester et valider le potentiel des indicateurs de vitalité comportementaux chez deux espèces de bivalves faisant l'objet d'un élevage commercial aux Îles-de-la-Madeleine: la moule bleue (*Mytilus edulis*) et la mye commune (*Mya arenaria*). La force d'attachement des moules ainsi que la vitesse d'enfouissement des myes sont testées afin de déterminer la vitalité des bivalves juvéniles préalablement au boudinage (moule bleue) et à l'ensemencement (mye commune) après avoir subi les effets d'émersion. Cet agent stressant spécifique a été choisi dû à la facilité de sa standardisation, mais aussi parce que, dans les pratiques aquacoles, les deux espèces subissent des périodes d'émersion avant le boudinage et l'ensemencement.

Ce projet de maîtrise permet de faire le bilan des informations disponibles sur différents indicateurs de stress et de vitalité pour juger du potentiel de chacun et d'identifier les informations manquantes mais dont l'obtention est nécessaire pour poser un meilleur jugement. Pour tester les deux indicateurs comportementaux de vitalité, nous avons émis

comme hypothèse que l'émersion subie par les moules et les myes induit un stress les forçant à utiliser leurs réserves énergétiques pour soutenir leur métabolisme de base ce qui aura comme conséquence une diminution du nombre de byssus et de la force d'attachement chez les moules et un ralentissement de l'enfouissement chez les myes. Le chapitre deux de cette thèse sera publié sous forme de Cahier d'information du MAPAQ alors que le chapitre trois sera soumis à la revue Aquaculture Research.

CHAPITRE 2
REVUE DE LITTÉRATURE ET FICHES DESCRIPTIVES DES DIFFÉRENTS
INDICATEURS DE STRESS ET DE VITALITÉ UTILISÉS CHEZ LES
MOLLUSQUES BIVALVES

Rachel Picard¹, Réjean Tremblay¹ and Bruno Myrand²

1) Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310

Allée des Ursulines, Rimouski, Québec, Canada, G5L 3A1

2) Centre maricole des îles-de-la-Madeleine, 107-125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules,

Québec, Canada, G4T 1B3

2.1 INTRODUCTION AUX INDICES DE VITALITÉ ET DE STRESS

Le développement d'indices de vitalité et de stress chez les mollusques bivalves en élevage est d'une grande importance pour les conchyliculteurs afin de minimiser les mortalités et les faibles croissances, et ainsi optimiser leur productivité. Ces indices intéressent aussi les gestionnaires des ressources halieutiques pour le suivi de l'évolution des stocks, de l'état de santé des animaux sauvages et de leur environnement. Puisque les bivalves sont relativement sédentaires et élevés en abondance, ils sont facilement accessibles et souvent utilisés comme espèces sentinelles de la qualité de l'environnement. Une caractéristique importante des bivalves qui les rend attrayants comme espèces sentinelles est leur mode d'alimentation. Filtreurs, ils concentrent dans leurs tissus les éléments dissous et particulaires présents dans leur entourage. Par exemple, le programme *Mussel Watch* mené depuis 1986 par le *National Centers for Coastal Ocean Science* (NCCOS) de la *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) des Etats-Unis, utilisent des moules (*Mytilus* sp. et *Dreissena* sp.) et des huîtres (*Crassostrea virginica*) pour analyser 140 composés ce qui permet d'effectuer un suivi quant à l'état et les tendances des lacs, des estuaires et des milieux côtiers américains (Kimbrough *et al.*, 2008). Au Québec, la mye commune (*Mya arenaria*) est utilisée comme espèce sentinelle pour le suivi de la contamination du fjord du Saguenay dans le cadre de plusieurs études scientifiques (Blaise *et al.*, 2002b; Gagné *et al.*, 2002; Fournier *et al.*, 2003; Gagné *et al.*, 2006).

En mariculture, l'identification du stress est essentielle puisqu'il peut causer un ralentissement dans la croissance, une diminution de l'effort reproducteur, une augmentation de la sensibilité des organismes à des facteurs de stress supplémentaires. À l'extrême, le stress peut causer la mort des organismes. Les mortalités massives sont des phénomènes assez fréquents privant les producteurs avec des pertes importantes de revenus mettant en péril la rentabilité et même la survie de leurs entreprises. Ainsi, au début des années 1990, un tel phénomène s'est produit aux Îles-de-la-Madeleine où les moules, suite à un effort reproducteur excessif en période de température élevée et de faible qualité alimentaire, ont été victimes de mortalité massive à cause d'un déficit énergétique (Pellerin-Massicotte, 1997; Tremblay *et al.*, 1998b, Myrand *et al.* 2002). Des mortalités massives se produisent régulièrement en France dans les zones de production de l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) et touchent surtout les individus de 2 ans (Samain et McCombie, 2007; Samain *et al.*, 2007). Cette problématique a fait naître le défi Morest mis sur pied par l'IFREMER (Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer) en 2001 et faisant appel à plusieurs disciplines de recherche (génétique, physiologie, immunologie, pathologie, écotoxicologie, écologie côtière et environnement) pour tenter d'expliquer le mécanisme d'interactions complexes menant à ces mortalités.

Les notions de vitalité et de stress sont utilisées à toutes les sauces non seulement dans les travaux avec les mollusques bivalves, mais aussi avec les autres organismes. Bien que reliées, il importe tout d'abord de définir ce que sont ces notions de vitalité et de stress dans le cadre de cette revue de littérature. La vitalité est définie comme l'ensemble des

propriétés vitales, les expressions ou les manifestations de la vie (croissance, résistance aux agents extérieurs, énergie, mobilité, fertilité...), qui proviennent d'une série d'aptitudes innées ou acquises pour répondre à différentes agressions courantes ou occasionnelles (Fleury et Mazurié, 2003). On mesure donc les manifestations de cette vitalité et non la vitalité elle-même. Ces manifestations peuvent être mesurées au niveau de la population (abondance, structure d'âge...), au niveau de l'individu (croissance, morphologie, comportement, taux de filtration...), au niveau tissulaire ou organique (taille de l'ensemble des cellules épithéliales digestives, épaisseur de la coquille...), au niveau cellulaire (phagocytose, nombre d'hémocytes...) et au niveau moléculaire (charge énergétique, HSP, enzymes, ADN...).

Le stress est la réponse de l'organisme à des agressions. Les épreuves ou facteurs de stress peuvent être exogènes d'origine naturelle (variations de température, de salinité, de concentration en oxygène...), endogènes (gamétogenèse...) ou anthropiques (manipulations, transport, introduction de polluants dans le milieu...). Suite à un stress, il existe deux conclusions possibles: le rétablissement et la récupération des individus ou la mort. L'inaptitude des organismes à répondre à une épreuve entraîne leur mort. Le stress peut induire une mortalité totale ou partielle du stock de bivalves, mais peut aussi passer inaperçue lorsque les individus ont pu récupérer. Cette récupération passe donc par une réponse adéquate de ses fonctions innées ou acquises servant à répondre aux différentes agressions, et donc de sa vitalité. La durée totale ainsi que l'intensité du stress sont des

notions importantes pour le conchyliculteur afin d'intervenir (opérations/ manipulations en conchyliculture) uniquement lorsque ce stress est terminé.

Il paraît intéressant d'identifier des indicateurs de la vitalité des bivalves pour estimer leurs probabilités de survie face à des facteurs de stress. Ainsi, plus cette vitalité sera élevée, plus l'animal sera apte à s'adapter à des épreuves importantes affectant leur métabolisme. Ceci se traduira par la modification de certaines fonctions en réponse à ces épreuves qui seront des indices de stress. Bien que les facteurs de stress peuvent entraîner la morbidité ou même la mort, ces effets sont souvent précédés de changements subtils qui, identifiés rapidement, font actes de bioindicateurs.

Un bon indice de vitalité doit être pertinent (organe analysé adapté à l'agent stressant que l'on veut mesurer, en état physiologique au repos ou lors d'un test d'effort), fiable (reproductible chez des lots identiques), sensible (détecter des variations chez des lots en conditions différentes), applicable in situ, mesurable sur l'individu et sur la population, prendre en compte l'allométrie, non létal, rapide, simple, robuste et peu coûteux.

2.2 LES MÉTALLOTHIONÉINES (MT)

2.2.1. Introduction

Les métallothionéines (MT) font partie du groupe des métalloprotéines, c'est-à-dire des protéines qui possèdent des ions métalliques dans leur structure propre ou qui peuvent les fixer sur certains de leurs sites actifs. Contrairement à d'autres métalloprotéines, les MT sont des dérivés métalliques d'une protéine riche en soufre appelée la thionéine et n'ont pas d'activité enzymatique. Leur rôle est de participer à la régulation du contenu intracellulaire en métaux tout en neutralisant et détruisant les radicaux libres. L'induction de leur synthèse peut être causée par différents agents stressants et, dans l'environnement, les variations de leurs teneurs dans les différents tissus ou organes sont fréquemment corrélées à la présence de métaux en excès ou de métaux toxiques (cadmium, zinc, cuivre, mercure, or, argent, cobalt, nickel, bismuth) (Amiard et Cosson, 1997).

2.2.2 Bivalves étudiés

Tableau 1 : Métallothionéines étudiées chez certaines espèces

Espèces	Agent stressant	Références
<i>Mya arenaria</i>	Pollution industrielle	Blaise <i>et al.</i> , 2002a
<i>Elliptio complanata</i>	Pollution industrielle	Blaise <i>et al.</i> , 2002a
<i>Mytilus edulis</i>	Métaux lourds	Steinert et Pickwell, 1988
	Saisons, sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
<i>Macoma balthica</i>	Métaux lourds	Bordin <i>et al.</i> , 1997
	Saisons, sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
<i>Corbicula fluminea</i>	Métaux lourds	Baudrimont <i>et al.</i> , 1997
<i>Ruditapes decussata</i>	Cadmium et métaux lourds	Bebianno <i>et al.</i> , 1993; Geret <i>et al.</i> , 2002

2.2.3 Quelques méthodes d'analyse

La méthode d'analyse utilisée par plusieurs auteurs est celle de la saturation à l'argent (Del Ramo *et al.*, 1995; Blaise *et al.*, 2002a). Par contre, d'autres utilisent l'analyse par saturation au mercure (Legeay *et al.*, 2005), des méthodes immunohistochimiques (Moraga *et al.*, 2005) ou la polarographie par pulse différencié (Bebianno *et al.*, 1993; Bordin *et al.*, 1997).

2.2.4 Quelques résultats obtenus

L'abondance de MT dans un organisme dépend de l'espèce (Langston *et al.*, 1989), de l'âge, du cycle de reproduction, des saisons et d'autres facteurs.

L'accumulation de cadmium dans les tissus mous chez *Ruditapes decussatus* est linéaire avec le temps. Ce métal est surtout accumulé dans le cytosol et est associé à des métallothionéines. Chez les individus exposés à 400 µg/l de cadmium, les MT sont davantage concentrées dans la glande digestive, puis des branchies et finalement des autres tissus mous (Bebianno *et al.*, 1993). L'exposition à des doses subléthales de cadmium augmente le nombre de métallothionéines dans l'ensemble des tissus, mais surtout dans les branchies (Bebianno *et al.*, 1993). Chez cette même espèce exposée à 0,4 et 4 µM de Cd²⁺ et Cu²⁺ ainsi qu'à un mélange des deux métaux (0,2 µM), les MT sont localisées dans l'épithélium de la glande digestive et des branchies en contact avec la cavité palléale. La quantité de MT est plus importante dans la glande digestive que dans les branchies. Les MT ont aussi été localisées dans les gonades matures (Moraga *et al.*, 2005). Chez *Ruditapes decussatus*, l'exposition au cadmium induit la production de métallothionéines après seulement 7 jours. Une exposition à trois concentrations de Cd (4, 40 et 100 g/l) a augmenté la production de métalloprotéines qui se sont liées au Cd excédent après 14 jours (Geret *et al.*, 2002).

Les concentrations de métallothionéines chez *Macoma balthica* varient de 0,85 à 7,81 mg/g de poids sec en fonction des saisons. Les concentrations sont plus grandes en hiver et plus faibles en été en raison des fluctuations de poids. De plus, il existe une forte corrélation entre les concentrations de métallothionéines et de métaux. Il y a une augmentation de la concentration de métallothionéines après une exposition à court terme à un mélange de Cd, Cu et Zn, mais avec des variations en fonction de la saison. En hiver, *M. balthica* est plus sensible aux métaux, elle accumule plus de cadmium et cuivre et produit plus de métallothionéines que durant les chauds mois d'été (Bordin *et al.*, 1997)

Chez *Dreissena polymorpha*, il existe une corrélation positive entre la quantité de métallothionéines et la concentration de cuivre. La concentration en MT s'avère être un des biomarqueurs les plus discriminants car il est très sensible (de Lafontaine *et al.*, 2000).

Chez *Corbicula fluminea*, les individus exposés au cadmium (30 µg/l) l'accumulent dans les branchies au cours du temps (14 jours d'expérience). Cette accumulation est plus importante en conditions hypoxiques (2 mg O₂/l). La synthèse des métallothionéines est observée chez les individus contaminés et débute plus tôt en conditions hypoxiques. Après 7 jours, les concentrations en métallothionéines sont significativement plus élevées en environnement hypoxique contaminé qu'en milieu oxique contaminé (Legeay *et al.*, 2005).

2.2.5 Qualités/inconvénients du test

Bien que les analyses de MT donnent des réponses rapidement et qu'elles ne sont pas nécessairement létales, la détermination de leur concentration demande une certaine expertise en biochimie. Des équipements sophistiqués et coûteux sont nécessaires pour les analyses. De plus, elles nécessitent une bonne connaissance des variations naturelles de leur concentration afin d'interpréter correctement les résultats obtenus. Ces indicateurs sont surtout utiles dans des conditions où on suspecte la présence de métaux lourds. Donc, leur utilisation éventuelle est assez limitée.

2.3 PROTÉINES DE CHOC THERMIQUE (HSP)

2.3.1 Introduction

Les protéines de stress tirent leur nom au stress thermique qui a permis leur découverte au début des années 1960. Par contre, d'autres agents stressants que la chaleur peuvent en induire la synthèse. Bien qu'elles soient également présentes de façon normale (sans agent stressant) dans les cellules (Lindquist et Craig, 1988; Ellis *et al.*, 1989; Pelham, 1990; Morimoto, 1991; Bensaude, 1992; Dahlhoff, 2004; Hofmann, 2005), elles sont surexprimées en présence d'agents stressants chimiques ou physiques (Dhainaut *et al.*, 1997). Ces protéines jouent un rôle dans la réparation de la conformation tridimensionnelle des autres protéines après leur dénaturation (Ellis et Vandervies, 1991) et fournissent ainsi une thermotolérance chez certains organismes soumis à de fortes variations de température de l'eau et de l'air. Il existe plusieurs familles dont les HSP90 (stress90), HSP70 (stress70), HSP60 (chaperonin60), HSP20-30, ubiquinine et nucléoplasmines. Par contre, ce sont surtout les HSP70 qui ont été étudiées chez les mollusques bivalves.

2.3.2 Bivalves étudiés

Tableau 2 : Protéines de choc thermique étudiées chez différents bivalves

Indicateurs	Espèces	Agent stressant	Références
HSP70 et HSP60	<i>Mytilus edulis</i>	Tributylétain et cuivre	Steinert et Pickwell, 1993 Sanders <i>et al.</i> , 1991 Sanders et Martin, 1993 Sanders <i>et al.</i> , 1994a
HSP 70	<i>Placopecten magellanicus</i>	Augmentation de la température	Ross <i>et al.</i> , 2003
	<i>Argopecten irradians</i>	Augmentation et diminution de la température	Ross <i>et al.</i> , 2003
	<i>Mercenaria mercenaria</i>	Diminution de la température	Ross <i>et al.</i> , 2003
	<i>Crassostrea virginica</i>	Parasites Métaux lourds, PCB, température	Brown <i>et al.</i> , 1993 Cruz-Rodriguez <i>et al.</i> , 2000
	<i>Crassostrea gigas</i>	Température	Shamseldin <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Température, bactéries	Tiscar <i>et al.</i> , 1996
	<i>Mytilus edulis</i>	Température, cadmium	Brown <i>et al.</i> , 1995
	<i>Haliotis rubra</i>	Température et salinité	Drew <i>et al.</i> , 2001

2.3.3 Méthodes d'analyse

Il existe plusieurs méthodes d'analyse des HSP : le marquage métabolique suivi d'une électrophorèse et d'une autoradiographie (Ruffin *et al.*, 1994), l'utilisation d'anticorps spécifiques (Bradley et Ward, 1989; Miller *et al.*, 1990; Cochrane *et al.*, 1991; Sanders et

Martin, 1993; Sanders *et al.*, 1994b) et l'hybridation avec des sondes d'ADN complémentaires et PCR (Cochrane *et al.*, 1991).

2.3.4 Quelques résultats obtenus

Suite à l'exposition à un agent stressant, les concentrations en HSP varient selon les organes et les tissus étudiés (Sanders et Martin, 1993), le cycle de marée, la saison, l'espèce (Nover, 1991; Sanders et Martin, 1993), l'âge, le stade de développement (Kroiher *et al.*, 1992), l'état reproducteur et l'alimentation.

Il semble aussi exister une relation linéaire entre l'induction des HSP70 et la réduction du taux de filtration comme cela a été démontré dans les branchies de moules exposées au TBT (Steinert et Pickwell, 1993).

Une diminution de la concentration en HSP a été observée chez *P. magellanicus* jusqu'à 21 jours suite à une augmentation de 10°C en 3 heures (Ross *et al.*, 2003). Chez *A. irradians*, le niveau de HSP a augmenté pendant et après ce même choc thermique pour atteindre une concentration maximale 12 heures plus tard. Cette concentration excédait toujours le niveau des témoins après une récupération de huit jours. Suite à un choc thermique dû à une diminution de la température (17°C en trois heures), le niveau de HSP chez *A. irradians* et *M. mercenaria* a augmenté pendant et après la variation de température (Ross *et al.*, 2003).

Ainsi, les effets d'un agent stressant peuvent persister même lors de la disparition de cette agent.

2.3.5 Qualités/inconvénients du test

Il reste d'importantes lacunes quant à l'utilisation des HSP comme indicateurs à cause du manque de connaissances sur leur dynamique exacte, la détermination de l'existence ou non d'une concentration seuil, d'une teneur maximale en HSP et de la présence d'induction transitoire ou permanente pour les différents organismes. Ainsi, il est essentiel d'acquérir de meilleures connaissances des variations des concentrations de ces protéines dans des conditions naturelles (ligne de base). De plus, la contamination du milieu naturel est fréquemment multiple, ce qui complique l'interprétation des résultats suite à l'interaction des différentes toxines entre elles et avec le système des HSP (Dhainaut *et al.*, 1997). De plus, des équipements sophistiqués et coûteux sont requis pour ces analyses ainsi que des connaissances approfondies en biochimie.

2.4 BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

2.4.1 Introduction

La formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) découlent de réactions métaboliques et de la production énergétique. Ces espèces réactives sont l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH°) et les hydroperoxy radicaux. Ces ROS peuvent créer un stress oxydant lorsqu'il y a insuffisance ou dysfonctionnement des systèmes de défense et de contrôle de l'organisme pour combattre leur surproduction. Ainsi, c'est le déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants qui mène à une agression toxique (Cossu *et al.*, 1997ab). Les ROS peuvent attaquer les protéines, les lipides, les glucides et les acides nucléiques et entraîner ainsi une destruction et un dysfonctionnement de leurs fonctions. Ils peuvent en plus entraîner une nécrose et une cancérisation des tissus ou encore un vieillissement prématuré (Cossu *et al.*, 1997b). Les ROS ont des rayons de diffusion dans l'organisme plus ou moins étendus selon leur stabilité et leur réactivité. Les mécanismes d'actions antioxydantes agissent pour éliminer ces espèces réactives ainsi que leurs catalyseurs, induire la synthèse des antioxydants et augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées (Cossu *et al.*, 1997b). Il existe trois types majeurs d'enzymes antioxydantes ayant le pouvoir de détruire les ROS : les superoxydes dismutases (SOD), les peroxydases et les catalases. Il existe aussi des antioxydants non enzymatiques comme le glutathion (GSH), l'acide lipoïque, la vitamine E, la vitamine A et l'ubiquinol. La détection

de ces antioxydants enzymatiques ou non ainsi que des conséquences d'un choc oxydant sont des indicateurs étudiés par plusieurs chercheurs.

2.4.2 Bivalves étudiés

Tableau 3 : Antioxydants et effets d'un choc oxydant étudiés chez différents bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressants	Références
Catalase	<i>Mytilus edulis</i>	Température	Pellerin-Masicotte, 1997
		Exposition à l'air	Pellerin-Masicotte, 1997
		Saisons et sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
	<i>Mya arenaria</i>	Température	Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
Malondialdéhyde (MDA)	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
	<i>Mytilus edulis</i>	Température	Pellerin-Masicotte, 1997
Malondialdéhyde (MDA)	<i>Mytilus edulis</i>	Exposition à l'air	Pellerin-Masicotte, 1997
		Température	Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 2002

Peroxydation des lipides	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Viarengo <i>et al.</i> , 1991b
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathion	<i>Mytilus edulis</i>	Température	Pellerin-Masicotte, 1997
		Exposition à l'air	Pellerin-Masicotte, 1997
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathione-S-transferase (GST)	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
		Saisons, contaminants	Manduzio <i>et al.</i> , 2004
	<i>Macoma balthica</i>	Saisons et sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathione peroxidase	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et contaminants	Manduzio <i>et al.</i> , 2004
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005

Glutathione réductase	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et contaminants	Manduzio <i>et al.</i> , 2004
Cu/Zn-superoxyde dismutase	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et contaminants	Manduzio <i>et al.</i> , 2004
Superoxyde dismutase	<i>Mya arenaria</i>	Température	Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 2002

2.4.3 Quelques méthodes d'analyse

La détection des espèces radicalaires se fait avec des techniques spectroscopiques de résonance paramagnétique électronique (RPE) basées sur la résonance de *spin* électronique permettant d'étudier la nature et la structure des espèces présentant un ou plusieurs électrons libres. Cette technique de RPE nécessite de piéger préalablement les ROS par la technique de *spin-trapping* à l'aide de réactifs nitrosés ou à base de nitrones pour faire des complexes radicalaires plus stables. Cette technique ne s'applique qu'*in vitro*.

Les études sur les conséquences des ROS sont beaucoup plus nombreuses que la détection des ROS elles-mêmes. Ainsi, la lipoperoxydation est mise en évidence par la mesure de la concentration en malondialdéhyde (MDA) par chromatographie liquide (HPLC) ou par spectrophotométrie du complexe coloré avec l'acide thiobarbiturique. Les systèmes antioxydants principalement étudiés reposent sur l'activité des systèmes enzymatiques (superoxyde dismutase (SOD), peroxydases, glutathion réductase et catalases) ainsi que sur

les concentrations en glutathion, en vitamines E et C et en caroténoïdes. Le tableau suivant montre les méthodes utilisées par différents auteurs pour différents systèmes antioxydants.

Tableau 4 : Méthodes d'analyse pour la détection de l'activation des systèmes antioxydants*

Systèmes	Méthodes	Références
Superoxyde dismutase (SOD)	Réduction du cytochrome c par O_2^- générés par le système xanthine/xanthine oxydase	McCord et Fridovich, 1969
	Oxydation du NADH par O_2^- générés par le mélange EDTA/MnCl ₂ + β mercaptoéthanol	Paoletti <i>et al.</i> , 1986
	Autooxydation du pyrogallol en milieu basique	Marklund et Marklund, 1974
Glutathion peroxydase (GPx)	Suivi de la consommation d'un des deux substrats (GSH ou peroxyde)	Wendel, 1981 Flohe et Gunzler, 1984
	Suivi de l'oxydation du NADPH couplée à l'activité peroxydasique	Paglia et Valentine, 1967
Catalase	Cinétique de réduction d' H_2O_2	Beers et Sizer, 1952
	Mesure de l' O_2 dégagé au cours de la réduction d' H_2O_2	Del Maestro et McDonald, 1987
	Spectrophotométrie	Pellerin-Massicote, 1997
Glutathion réductase (GRd)	Suivi de l'oxydation du NADPH en présence de glutathion oxydé	Carlberg et Mannervik, 1985
Glutathion (GSH)	Réaction cyclique où la réduction du DTNB est suivie, en présence de glutathion oxydé	Akerboom et Sies, 1991
	Méthodes HPLC après dérivation du glutathion avec un réactif fluorescent	Leroy <i>et al.</i> , 1993 Martin et White, 1991 Neuschwander-Terri et Roll, 1989
Malondialdéhyde (MDA)	Test à l'acide thiobarbiturique (TBA)	Buege et Aust, 1978 Pellerin-Massicote, 1997
	Méthodes HPLC	Csallany <i>et al.</i> , 1984 Esterbauer <i>et al.</i> , 1984 Behrens et Madere, 1991
4-hydroxynonéal	Méthodes HPLC	Esterbauer et Zollner, 1989
	Méthodes GC-spectrométrie de masse	Rice-Evans <i>et al.</i> , 1991
Ensemble du spectre des aldéhydes formés au cours de la lipoperoxydation	Méthode de la 2,4 dinitrophénylhydrazine	Esterbauer et Zollner, 1989
	Méthode de la 1,3 cyclohexanedione	Rice-Evans <i>et al.</i> , 1991

* Tableau modifié à partir de Cossu *et al.* (1997), p. 144

2.4.4 Quelques résultats obtenus

Les activités antioxydantes dans la glande digestive de *Mytilus edulis* et de *Mytilus galloprovincialis* sont influencées par la teneur en oxygène et les facteurs climatiques et physiologiques. Les activités antioxydantes et la lipoperoxydation diminuent en conditions anaérobiques (Viarengo *et al.*, 1989). Les activités anti-oxydantes sont augmentées chez *M. galloprovincialis* par la ponte en mars-avril et diminuent au printemps avec une augmentation de la nourriture et de la température (Solé *et al.*, 1995). Chez *M. edulis*, les moules âgées de plus de 10 ans présentent un taux de lipoperoxydation plus élevé qui est expliqué par une activité antioxydante moindre (Viarengo *et al.*, 1991a). Les activités antioxydantes sont généralement augmentées en présence de polluants, transitoirement, accompagnées ou non de lipoperoxydation et varient d'une espèce à l'autre (Cossu *et al.*, 1997b).

Il y a une augmentation des teneurs en MDA dans la glande digestive de *M. edulis* lors d'une augmentation de la température ou d'une émergence. Ces concentrations sont corrélées négativement avec une diminution du glycogène et avec le stress physiologique occasionné par les pontes successives (Pellerin-Massicotte, 1997). Dans les sites où les moules sont submergées en permanence, la production de MDA et la catalase est induite par les conditions environnementales sévères (action des vagues dues à des vents violents).

L'inflammation, les maladies infectieuses (Torreilles *et al.*, 1996), l'âge (Ribera *et al.*, 1989) et la reproduction (Viarengo *et al.*, 1991b) sont des facteurs qui augmentent la production de ROS.

L'activité de la NADPH-ferrihémoprotéine a été observée dans les cellules de la glande digestive de moules bleues recueillies dans un site contaminé contrairement à des moules provenant d'un site non contaminé. De plus, la saison ne semble pas influencer ces résultats (Kagley *et al.*, 2003).

2.4.5 Qualités/inconvénients du test

L'étude du stress oxydant est complexe en raison des mécanismes impliqués ainsi qu'à la diversité des protocoles expérimentaux. La mise en œuvre demande une réelle expertise biochimique. De plus, l'activité antioxydante peut revenir à son niveau initial (adaptation) même si l'exposition à un agent stressant (ex. pollution) persiste (Solé *et al.*, 1995). Par contre, la diminution qui suit un pic d'induction peut aussi signifier un état de santé précaire de l'organisme étudié. De plus, l'induction d'une activité antioxydante en particulier peut seulement être compensatoire au déficit d'une autre, c'est-à-dire que si une activité antioxydante ne fournit plus pour une certaine raison, un second type d'activité sera mise en branle et prendra la relève pour maintenir le métabolisme. Aussi, cette activité peut résulter d'un phénomène physiologique normal (reproduction) ou de facteurs

environnementaux naturels. Ainsi, l'utilisation d'indicateurs antioxydants nécessite une très bonne connaissance des variations normales chez l'espèce étudiée.

2.5 BIOMARQUEURS DE GÉNOTOXICITÉ

2.5.1 Introduction

La génotoxicité peut se définir comme étant une altération de l'intégrité structurale de l'ADN par un agent (substance génotoxique) de nature physique ou chimique. Ces modifications peuvent être décelées soit par l'analyse directe de la structure de l'ADN ou par l'examen de sa traduction fonctionnelle. Les agents génotoxiques ont deux modes d'action. Ils peuvent former des produits d'addition (adduits) entre le xénobiotique et les nucléotides ou occasionner des cassures dans les brins d'ADN formant des micronoyaux (Rether *et al.*, 1997) ce qui donne parfois lieu à des manifestations externes visibles (ex. dissymétrie de la coquille). Ces altérations peuvent servir d'indicateurs de stress génotoxique (Fréchette, 2003).

2.5.2 Bivalves étudiés

Tableau 5 : Altérations de l'ADN utilisé comme indicateur de génotoxicité chez différents bivalves

Indicateur	Espèces	Agent stressant	Référence
Dissymétrie de la coquille – dissymétrie fluctuante	<i>Chlamys islandica</i>	Stress environnementaux	Fréchette et Daigle, 2002
Dissymétrie de la coquille – dissymétrie fluctuante	<i>Crassostrea gigas</i>	Stress environnementaux	Fréchette <i>et al.</i> , 2003
Dommages de l'ADN	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005

2.5.3 Méthodes d'analyse

Certaines méthodes s'attardent à caractériser l'ADN lui-même tandis que d'autres mesurent plutôt les effets des modifications de l'ADN sur le phénotype de l'individu (ex. : asymétrie fluctuante). Certains chercheurs utilisent la radiodétection (Randerath *et al.*, 1981). Cette méthode est précédée par un postmarquage consistant à hydrolyser avec enzymes l'ADN en nucléotides ou petits oligonucléotides contenant les adduits pouvant être marqués au ^{32}P par transfert de groupement phosphate radioactif du $\gamma^{32}\text{P}$ -ATP avec de la polynucléotide kinase du phage T4. Les nucléotides et adduits radioactifs sont finalement séparés par une série de chromatographies sur plaques de polyéthylèneimine cellulose (PEI-cellulose) avant d'être détectés et comptabilisés grâce à l'autoradiographie (Rether *et al.*, 1997).

Pour la cassure de mono-brin, il existe des techniques dont l'élution alcaline (Rydberg, 1975; Ahnstorm et Erixon, 1980; Kohn, 1986; Shugart, 1988) et l'essai comètes en conditions alcalines (Singh *et al.*, 1988; Fairbairn *et al.*, 1995; Ross *et al.*, 1995).

La détection de micronoyaux se fait par la détection d'érythrocytes micronucléés.

La dissymétrie fluctuante (DF) (fluctuating asymmetry) correspond aux variations morphologiques aléatoires de part et d'autre du plan de symétrie d'un organisme selon des influences génétiques et environnementales. C'est un outil largement utilisé en recherche. En l'absence de toute perturbation de l'expression du génome, les traits phénotypiques

devraient être sensiblement identiques d'une part et d'autre d'un plan de symétrie. Ainsi, la DF est l'expression morphologique des perturbations de l'expression des gènes suite à l'exposition à un agent génotoxique. La dissymétrie dysfonctionnelle se manifeste en trois types : centrée, directionnelle ou asymétrique (Moller, 1997). Fréchette *et al.* (2003) ont estimé la DF de l'huître creuse avec la formule suivante :

$$DF = (L - R) / (L + R) \quad (1)$$

Cette formule est utilisée dans le cas d'un modèle additif de la croissance, c'est-à-dire lorsque les tissus qui génèrent la croissance ne changent pas de forme (ex. ongles, plumes, dents, écailles...) et L et R correspondent à la taille de la valve gauche et droite respectivement. Dans le cas d'un modèle de croissance multiplicatif, c'est-à-dire dans les cas où la croissance résulte de la participation active des tissus à la production d'autres tissus, la formule utilisée est la suivante :

$$DF = \ln (L/R) \quad (2)$$

2.5.4 Quelques résultats obtenus

Des moules et des huîtres exposées pendant quelques jours à des polluants chimiques présentent une augmentation du nombre de cassures d'ADN simple brin dans les branchies et dans le tractus digestif, effets qui restent perceptibles une semaine après le retour en eau non contaminée (Nacci *et al.*, 1992).

La DF augmente généralement avec le niveau de stress éprouvé pendant l'ontogénie (Hochwender et Fritz, 1999; Badyaev *et al.*, 2000; Hosken *et al.*, 2000; Lens et Van Dongen, 2000; Kozlov *et al.*, 2001). C'est aussi un indicateur pratique de la capacité individuelle à résister aux agressions de l'environnement (Brown et Bomberger Brown, 1998; Bjorksten *et al.*, 2000; Lens et Van Dongen, 2000, Fréchette *et al.*, 2003). Cependant, chez certaines espèces, la DF peut être masquée par une croissance compensatoire (Collin, 1997) ou peut demeurer stable dans le temps (Chippindale et Palmer, 1993; Shykoff et Moller, 1999). Par exemple, la DF de *Crassostreas gigas* est stable (Fréchette *et al.*, 2003). Selon Polak (2003), la DF répond à plusieurs agressions environnementales (températures extrêmes, polluants, fragmentation des écosystèmes, niveau de radiation...).

2.5.5 Qualités/inconvénients du test

Les manifestations d'un choc génotoxique ne semblent pas être utile à titre d'indicateur précoce puisque lorsqu'un agent de stress affecte l'ADN, c'est qu'il a passé à travers toutes les autres barrières de défense de l'organisme. Sa présence aurait donc pu être détectée plus tôt avec un autre type d'indicateur. De plus, comme ces mutations sont permanentes, elles peuvent être très dommageables pour les organismes et diminuer grandement leur vitalité. Les méthodes de radiodétection nécessitent la manipulation de radioactivité, ce qui est impossible à faire sur le terrain et requiert de très grandes protections en milieu contrôlé.

La méthode de détection des micronoyaux dans les érythrocytes est très sensible, mais la fréquence d'observations de telles cellules micronucléées est très faible ce qui entraîne une difficulté à les compter au microscope. La détection de cassures sur un simple brin d'ADN nécessite de nombreuses précautions pour ne pas endommager les brins d'ADN lors de la manipulation des échantillons. Donc il y a une extrême fragilité des brins, mais une très grande sensibilité de la technique de détection.

L'estimation de la DF est basée sur la mesure des dimensions linéaires des organismes, donc réalisable près des sites aquicoles et avec des équipements très simples. Par contre, la DF répond à plusieurs agressions environnementales (températures extrêmes, polluants, fragmentation des écosystèmes, niveau de radiation...) et varie d'un individu à l'autre (Polak, 2003). C'est donc un indice moins reproductible, mais sensible, qui ne permet pas d'identifier précisément l'agent stressant. La DF est la résultante d'un stress à long terme ou l'expression d'un stress chronique.

2.6 CHARGE ÉNERGÉTIQUE EN ADÉNYLATES (CEA)

2.6.1 Introduction

En présence d'un agent stressant (anoxie, dénutrition, choc thermique, manipulations, pollution, etc.), l'organisme accroît sa dépense énergétique pour mettre en place des mécanismes de compensation physiologique. Ce syndrome d'adaptation générale (Selye, 1976) met en œuvre différentes voies métaboliques qui peuvent être identifiées par certains biomarqueurs. La charge énergétique des adénylates (CEA) correspond à l'énergie métabolique potentiellement disponible d'un organisme selon les concentrations d'adénosine tri-phosphate (ATP), d'adénosine diphosphate (ADP) et d'adénosine monophosphate (AMP) (Le Gal *et al.*, 1997). La CEA varie entre 0 (si tous les adénylates sont stockés sous forme de molécules d'AMP sans énergie) et 1 (s'ils le sont sous forme de molécules d'ATP riches en énergie) et est calculée selon la formule suivante :

$$CEA = \frac{[ATP] + (\frac{1}{2}) [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]} \quad (3)$$

Lorsqu'il y a équilibre entre la dégradation et la régénération de l'ATP, donc en conditions optimales, la CEA a une valeur d'environ 0,80 (Atkinson, 1968). Les valeurs comprises entre 0,50 et 0,75 témoignent d'individus stressés ou qui sont dans un état physiologique suboptimal (croissance limitée, diminution du potentiel reproducteur, etc.) (Maguire, 2003). Les valeurs inférieures à 0,50 rendent compte d'un état de stress sévère caractérisé par des

cellules moribondes qui ne pourront ni survivre ni récupérer même avec un retour aux conditions optimales (Ivanovici, 1979).

2.6.2 Bivalves étudiés

Tableau 6 : Études portant sur la charge énergétique en adénylates chez différents bivalves

Espèces	Agents stressant	Références
<i>Pecten maximus</i>	Transport et dragage	Maguire, 2003
	Récolte	Duncan, 1993
	Saisons	Fleury <i>et al.</i> , 1997
	Transport, dragage, saisons, site	Maguire <i>et al.</i> , 1999a, b, 2002, a, b, c
<i>Crassostrea gigas</i>	Émersion	Moal <i>et al.</i> , 1989
	Conditions trophiques	Moal <i>et al.</i> , 1991
<i>Crassostrea. angulata</i>	PCB	Madureira <i>et al.</i> , 1993
<i>Mytilus edulis</i>	Anaérobie	Wijsman, 1976ab
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Cadmium et anoxie	Isani <i>et al.</i> , 1997
<i>Placopecten magellanicus</i>	Mouvement des valves	De Zwaan <i>et al.</i> , 1980
<i>Spisula solida</i>	Dragage	Chicharo <i>et al.</i> , 2003

2.6.3 Méthodes d'analyse

La détermination de la CEA nécessite le dosage des concentrations en AMP, ADP et ATP qui s'effectue par chromatographie liquide à haute performance (CHPL) sur colonne en phase inverse et selon un mode d'élution isocratique (Moal *et al.*, 1989). L'addition d'un

contre-ion (tetrabutylammonium hydroxyde) dans la phase aqueuse mobile, tampon phosphate, pH6, permet une séparation en fonction de la composition de la base (purique ou pyrimidique) et du nombre de groupements phosphates. Une deuxième technique utilisée est celle de la méthode luciférine/luciférase mise au point par Klinken et Skjoldal (1983).

2.6.4 Quelques résultats obtenus

Giesy *et al.* (1981) ont trouvé une variation saisonnière de la CEA et des nucléotides adényliques (valeurs maximales d'ATP, ADP et AMP en décembre, janvier, juin et juillet et minimales en mai) chez deux espèces de bivalves. Ces concentrations en ATP, ADP et AMP sont reliées à la reproduction et à la formation des œufs.

Rainer *et al.* (1979) ont trouvé une diminution de la CEA dans le muscle adducteur de trois mollusques lors d'une baisse de la salinité. La température semble aussi jouer un rôle dans la valeur de la CEA selon des études menées chez les poissons (John et Pechnik, 1980; Haya et Waiwood, 1983). Le pH a aussi une influence sur les valeurs de CEA chez certaines espèces de poissons et de mollusques gastéropodes (McFarlane, 1981; Combs et Ellington, 1995). De faibles concentrations en oxygène peuvent faire diminuer la CEA comme l'a montré Wisjman (1976ab) chez *Mytilus edulis*. Les métaux ont aussi des effets en diminuant la CEA chez certaines espèces (Giesy *et al.*, 1978; Buu et Le Gal, 1989),

tandis que pour d'autres, la CEA reste stable bien que les différentes composantes varient (Haya *et al.*, 1980; Zaroogian *et al.*, 1982; Haya *et al.*, 1983).

Même après un transport d'une journée en vivier, les pétoncles étudiés par Maguire (2003) ont gardé une CEA élevée (0,69). Par contre, le transport en émergence (*dry transport*) a occasionné une diminution des niveaux de la CEA à 0,42 (Maguire, 2003). Les individus qui ont été en contact avec l'engin de pêche (drague), récoltés ou non, ont montré des CEA moindres que les témoins. Ces pétoncles ont aussi montré des variations saisonnières de la CEA qui étaient plus élevées en octobre, mais minimales en février. Par contre, il n'y a pas de différence de CEA d'un site à l'autre. La taille de l'animal est aussi un facteur influençant la CEA puisque les petits pétoncles ont une CEA plus élevée que les plus grands (Maguire, 2003).

2.6.5 Qualités/inconvénients du test

Les valeurs mesurées de CEA sont très semblables entre les tissus d'organismes de même taille, de même espèce, provenant d'un même site et placés dans les mêmes conditions environnementales. Ainsi, la CEA semble un indice sensible et assez fiable. Par contre, cette sensibilité requiert une extrême précaution. En effet, les manipulations des individus peuvent être à l'origine d'une diminution de la CEA mais chez les mollusques, les effets de manipulations sont moins importants que pour d'autres animaux (Ivanovici et Wiebe, 1982; Giesy *et al.*, 1983). De plus, il est nécessaire de bien connaître les modes de régulation des

adénylates en conditions optimales chez les organismes étudiés. Le stade de développement, l'âge des individus ainsi que l'histoire écotoxicologique des populations sont des facteurs qui influencent leur réponse à un facteur de stress, donc qui influencent leur CEA.

L'interprétation de la valeur obtenue peut varier d'une espèce étudiée à l'autre. En effet, chez les invertébrés, les faibles capacités catalytiques de l'AMP-désaminase qui permettent le maintien de la CEA, favorisent une très grande variation de la CEA. Ainsi, des valeurs de 0,30-0,40 ne reflètent pas nécessairement une situation de létalité (Raffin et Thébault, 1996).

2.7 MARQUEURS IMMUNOLOGIQUES

2.7.1 Introduction

Chez les mollusques bivalves, les hémocytes jouent un rôle prépondérant dans la défense immunitaire (Cheng, 1981). En présence d'antigènes, les hémocytes effectuent une migration pour aller les phagocyter et les détruire grâce à des enzymes (Pipe, 1990) ou à la production de radicaux libres de l'oxygène (Pipe, 1992, Noël *et al.*, 1993). Ainsi, l'évaluation du nombre et du type d'hémocytes en circulation, leur activité phagocytaire, le niveau d'enzymes lysosomales et la production de radicaux libres ont été utilisés comme indicateurs immunitaires de stress. De plus, certaines enzymes comme la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) – ferrihémoprotéine réductase, sont en charge de détoxifier l'organisme de sorte que leur concentration peut être utilisée comme biomarqueur d'un stress dû à un contaminant. L'activité antibactérienne contre des agents pathogènes spécifiques est aussi utilisée comme indicateur de la capacité d'un mollusque à surmonter une infection (Hooper *et al.*, 2007).

2.7.2 Bivalves étudiés

Tableau 7 : Indicateurs immunologiques étudiés chez quelques espèces de bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Concentration d'hémocytes en circulation	<i>Chamelea gallina</i>	Pêche commerciale (dragage, pression, tri mécanique)	Ballarin <i>et al.</i> , 2003
	<i>Venerupis philippinarum</i>	Sites d'élevage et saisons	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mya arenaria</i>	Métaux lourds	Brousseau <i>et al.</i> , 2000
Activité de l'acide phosphatase	<i>Chamelea gallina</i>	Pêche commerciale (dragage, pression, tri mécanique)	Ballarin <i>et al.</i> , 2003
Taille des hémocytes	<i>Venerupis philippinarum</i>	Sites d'élevage et saisons	Soudant <i>et al.</i> , 2004
Concentration des lysosymes	<i>Venerupis philippinarum</i>	Sites d'élevage et saisons	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Âge	Carballal <i>et al.</i> , 1997
Activité de la NADPH-ferrihémoprotéine réductase	<i>Mytilus edulis</i>	Contaminants (HAPs, PCBs)	Kagley <i>et al.</i> , 2003
Activité enzymatique des phosphatases, estérases, protéases et glucosidases des hémocytes	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saison, âge	Carballal <i>et al.</i> , 1997
Élargissement des cellules digestives	<i>Mytilus edulis</i>	Âge, hypoxie et hypothermie	Hole <i>et al.</i> , 1995

Stabilité des lysosomes	<i>Mytilus edulis</i>	Contaminants (HAP, BPC) Manipulation après la cueillette et conditions d'entreposage Âge, hypoxie et hyperthermie	Kagley <i>et al.</i> , 2003 Harding <i>et al.</i> , 2004 Hole <i>et al.</i> , 1995
	<i>Mytilus trossulus</i>	Manipulation après la cueillette et conditions d'entreposage	Harding <i>et al.</i> , 2004
	Hybrides <i>M. edulis</i> et <i>M. trossulus</i>	Manipulation après la cueillette et conditions d'entreposage	Harding <i>et al.</i> , 2004
Pourcentage, taille et granularité de quatre types d'hémocytes	<i>Crassostrea virginica</i>	Alimentation (quantité et qualité) et augmentation rapide de la température	Hégaret <i>et al.</i> , 2004
Activité antibactérienne	<i>Crassostrea gigas</i>	Pathogènes et reproduction	Samain <i>et al.</i> , 2007 Li <i>et al.</i> , 2007
Activité phagocytaire	<i>Chamelea gallina</i> <i>Mya arenaria</i>	Pêche commerciale (dragage, pression, tri mécanique)	Ballarin <i>et al.</i> , 2003
		Contaminants environnementaux	Blaise <i>et al.</i> , 2002
		Sédiments marins contaminés (BPC, HAP)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Eau contaminée (HgCl ₂ et CH ₃ HgCl)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Substances chimiques	Fournier <i>et al.</i> , 2000
Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002		

		Contaminants environnementaux	Blaise <i>et al.</i> , 2002a
		Métaux lourds	Brousseau <i>et al.</i> , 2000
	<i>Elliptio complanata</i>	Alimentation (quantité et qualité)	Hégaret <i>et al.</i> , 2004
		Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Crassostrea virginica</i>	Bactéries	Volety <i>et al.</i> , 1999
		Choc osmotique	Tirard <i>et al.</i> , 1997
		TBT	Oliver <i>et al.</i> , 1995
	<i>Mactromeris polynyma</i>	Sédiments marins contaminés (BPC, HAP)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mytilus edulis</i>	Eau contaminée (HgCl ₂ et CH ₃ HgCl)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Substances chimiques	Fournier <i>et al.</i> , 2000
	<i>Crassostrea gigas</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
		Antigènes	Lacoste <i>et al.</i> , 2002
		Reproduction	Samain <i>et al.</i> , 2007
	<i>Ruditapes philippinarum</i>	Bactéries, jeûne	Oubella <i>et al.</i> , 1993
	<i>Cyrtodaria siliqua</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mesosdesma arctatum</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002

	<i>Mya truncata</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Serripes groenlandicus</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Dreissena polymorpha</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002

2.7.3 Méthodes d'analyse

La majorité des techniques demandent de prélever une petite quantité d'hémolymphe. Pour la détermination du nombre d'hémocytes, il y a dilution dans une solution de cystéine et comptage avec un hémocymètre (Ballarin *et al.*, 2003). Le nombre total d'hémocytes en circulation, le pourcentage de mortalité des hémocytes ainsi que leur taille et leur complexité ont été déterminés par cytométrie en flux par Soudant *et al.* (2004). Les mêmes auteurs ont également déterminé la concentration en lysozymes par spectrométrie. Le pourcentage relatif, la taille et la granulométrie de quatre types d'hémocytes ainsi que leur viabilité, aggrégation, adhérence, phagocytose ont été déterminés par cytométrie en flux (Hégaret *et al.*, 2004). Brousseau *et al.* (2000) ont étudié le nombre et la viabilité des hémocytes suite à l'exposition à des métaux lourds. Ils ont déterminé le nombre d'hémocytes avec la méthode de coloration au bleu trypan et un hémocytomètre tandis que la viabilité a été mesurée par cytométrie en flux.

L'activité de la phagocytose est déterminée grâce à un indice basé sur le pourcentage de cellules colorées avec une solution Giemsa qui ont ingéré de la levure après une période

d'incubation donnée (Ballarin *et al.*, 2003). Une autre façon de déterminer l'activité phagocytaire repose sur l'utilisation de la fluorescence sur microplaques qui mesure le nombre de bactéries marquées à la fluoresceine-isocyanate au bleu de trypan (Hed, 1995) et ingérées par les hémocytes en microplaques (Blaise *et al.*, 2002a). Il est également possible de mesurer l'activité phagocytaire par la phagocytose de billes fluorescentes ou des fluosphères de latex jaune-vert à l'aide d'un cytomètre en flux (Fournier *et al.*, 2000, 2003; Sauvé *et al.*, 2002).

L'activité de la NADPH-ferrihemoprotéine réductase (Kagley *et al.*, 2003) est déterminée par la méthode de coloration de Van Noorden et Butcher (1986) et Moore (1988) et d'une analyse d'images (Krishnakumar *et al.*, 1994).

La stabilité des lysosomes est déterminée à l'aide d'un marqueur enzymatique selon la méthode de Bitensky *et al.* (1973) et Moore (1988) et la mesure des différents niveaux de réaction est obtenue à l'aide d'un analyseur d'images (Tremblay et Pellerin-Massicotte, 1997; Tremblay *et al.*, 1998b; Kagley *et al.*, 2003). La stabilité des lysosomes peut aussi être déterminée par l'analyse de la rétention du rouge neutre selon la méthode décrite par Lowe *et al.* (1995a, b) modifiée légèrement par Harding *et al.* (2004). De leur côté, Hole *et al.* (1995) ont déterminé la stabilité des lysosomes chez les moules selon la méthode de la latence cytochimique du β -N-acetylhexosaminidase (NAH) telle que décrite par Moore (1988).

L'activité enzymatique de l'acide phosphatase est déterminée par l'observation de cellules colorées selon la méthode de Lojda *et al.* (1979). La détermination de l'activité enzymatique dans les hémocytes est déterminée par une méthode semi quantitative colorimétrique API ZYM (Carballal *et al.*, 1997). Finalement, l'activité des lysozymes a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode de Shugar (1952) et Chu et La Peyre (1989).

2.7.4 Quelques résultats obtenus

L'augmentation du nombre d'hémocytes en circulation a été observée lors d'un stress thermique, d'une exposition à un pathogène ou encore à des substances toxiques (Renwranz, 1990; Cheng, 1988a; Anderson *et al.*, 1992; Coles *et al.*, 1994; Oubella *et al.* 1993). Une diminution du nombre d'hémocytes a été observée lors d'une exposition à des concentrations très élevées de contaminants (Suresh et Mohandas, 1990). Il y a réduction du nombre de grands hémocytes et une augmentation du nombre de petits hémocytes chez des huîtres *Crassostrea virginica* transférées d'un site non pollué à un site pollué (Sami *et al.*, 1992). L'activité phagocytaire diminue chez *Mercenaria mercenaria* lors d'une exposition au phénol (Fries et Tripp, 1980), mais augmente lors d'une exposition à long terme au benzo(a)propyrène, au pentachlorophénol et à l'hexachlorobenzène (Anderson, 1981). L'exposition de *M. edulis* et *C. virginica* aux métaux lourds stimule la phagocytose lors d'une exposition de courte durée et à faibles concentrations (Cheng et Sullivan, 1984; Cheng, 1988, Coles *et al.*, 1995), mais inhibe la phagocytose lors d'une exposition plus

longue à des concentrations plus élevées (Fries et Tripp, 1980; Cheng et Sullivan, 1984; Cheng, 1988; Coles *et al.*, 1995). L'exposition à des concentrations très élevées de métaux lourds entraîne une inhibition de la production de radicaux libres de l'oxygène par les hémocytes (Larson *et al.*, 1989; Anderson *et al.*, 1992), mais l'exposition aux concentrations rencontrées normalement dans l'environnement n'a pas d'effet (Anderson *et al.*, 1992; Coles *et al.*, 1995). Chez *M. edulis*, la production du radical superoxyde est stimulée par la présence de fluoranthène à de fortes concentrations (Coles *et al.*, 1994). L'activité de la NADPH-ferrihémoprotéine a été observée dans les cellules de la glande digestive des moules bleues recueillies dans un site contaminé mais pas dans celles provenant d'un site non contaminé. Par contre, la saison ne semble pas influencer cette activité (Kagley *et al.*, 2003).

Il semble y avoir une grande activité de la phagocytose chez les myes récoltées près des zones polluées. Dans les sites de référence (peu ou pas pollués), l'activité phagocytaire a aussi augmenté lorsque la température était maximale. L'activité phagocytaire est maximale en période de ponte dans les sites pollués (Blaise *et al.*, 2002a). Par contre, elle est diminuée les individus *Elliptio complanata* exposés aux rejets municipaux. De plus, la concentration des hémocytes augmente dans ces sites pollués (Sauvé *et al.*, 2002).

L'activité phagocytaire chez *Mactromeris polynyma* est supprimée après quatre semaines d'exposition à des sédiments contaminés tandis que *M. arenaria* présente une activité normale. Par contre, l'activité phagocytaire était supprimée chez ces deux espèces quelques

semaines plus tard. Après sept jours d'exposition à de l'eau contaminée au chlorure de mercure (HgCl_2) (10^{-5}M), toutes les myes étaient mortes. Toutefois, une diminution de l'activité phagocytaire a été observée après 28 jours d'exposition à 10^{-6}M de HgCl_2 . Un patron similaire a été noté avec le chlorure de méthylmercure (CH_3HgCl), mais avec une inhibition de l'activité phagocytaire plus hâtive. Chez *M. edulis*, la suppression de la phagocytose s'est produite bien plus tôt et à des concentrations moindres que celles observées pour *M. arenaria*. Il existe, par exemple, une différence inter-spécifique de la réponse phagocytaire suite à l'exposition à des métaux et à d'autres substances chimiques (Fournier *et al.*, 2000). Sauvé *et al.* (2002) ont observé que l'exposition à de faibles doses de mercure organique et inorganique et de zinc a stimulé l'activité phagocytaire chez certaines espèces de bivalves mais pas toutes. À des concentrations plus grandes, tous les métaux testés ont inhibé l'activité phagocytaire. Par contre, les différentes espèces de bivalves ont répondu différemment en présentant différents niveaux de sensibilité.

Ballarin *et al.* (2003) ont observé une réduction de l'immunosurveillance causée par une baisse de l'activité phagocytaire et de l'acide phosphatase ainsi qu'une diminution de la concentration des hémocytes en circulation en relation avec une augmentation de l'intensité d'un facteur de stress mécanique lié à des manipulations. Le nombre total et la taille des hémocytes varient en fonction des saisons (Soudant *et al.*, 2004). De plus, l'augmentation de la concentration d'hémocytes de grande taille est accompagnée d'une diminution du nombre total d'hémocytes ce qui suggère une réduction de la division cellulaire (Soudant *et al.* 2004). Chez l'huître, *C. gigas*, et la moule, *M. edulis*, la capacité immunitaire et

l'activité antibactérienne étaient diminuées en fin de gamétogenèse et de ponte (Cartier *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2007; Samain *et al.*, 2007).

Chez les moules étudiées par Kagley *et al.* (2003), il n'y a pas eu de variations saisonnières de la stabilité des lysosomes, mais cette stabilité était moins élevée dans les cellules de moules provenant d'un site contaminé. Tremblay *et al.* (1998b) ont démontré chez *M. edulis* un lien entre, d'une part, la stabilité de la membrane lysosomale ainsi que l'activité des enzymes et, d'autre part, le stress post-ponte causé par une température élevée et une faible qualité nutritionnelle en période de mortalité massive. La stabilité de la membrane lysosomale varie également avec le temps d'émersion que subit la moule *M. edulis* et la mye *Mya arenaria* (Tremblay et Pellerin-Massicotte, 1997).

Le niveau d'activité de certaines enzymes chez *M. galloprovincialis* varie au cours de l'année, mais sans patron saisonnier apparent. Certaines de ces enzymes (*N*-acetyl- β glucosaminidase) ont des concentrations plus importantes chez les jeunes individus tandis que d'autres (α -glucosidase) ont des concentrations plus élevées chez les plus âgés (Carballal *et al.*, 1997). L'activité lysozomiale est plus importante dans les cellules des jeunes moules que dans celles des moules plus âgées (Carballal *et al.*, 1997). Toutefois, il a été démontré que les enzymes lysosomales chez *M. edulis* variaient en fonction du cycle reproducteur (Tremblay *et al.*, 1998b).

La rétention du rouge neutre par les lysosomes est influencée par la saison, le type de procédé post-récolte, la réimmersion ainsi que le type et le temps d'entreposage des moules. Cette rétention est, en effet, diminuée chez les moules dont le byssus a été arraché. De plus, les moules gardées dans un endroit réfrigéré ou sur la glace ont aussi montré une diminution de la rétention comparativement à celles réimmergées lors de l'entreposage (Harding *et al.*, 2004).

Hégaret *et al.* (2004) ont trouvé que'il existe une relation positive entre l'activité phagocytaire et l'aggrégation des hémocytes chez *C. virginica*, mais une corrélation négative avec la mortalité. Ces auteurs considèrent qu'une huître a un système immunitaire efficace si elle présente un haut taux d'aggrégation et de phagocytose et peu de mortalité des hémocytes. Les huîtres gardées à jeun montrent peu de phagocytose et peu d'aggrégation. De plus, une augmentation de la température entraîne des mortalités ainsi qu'une diminution de la phagocytose et de l'aggrégation. Ainsi, une alimentation déficiente et une augmentation de la température soudaine affectent le système immunitaire des huîtres, les rendant possiblement plus vulnérables aux parasites et aux maladies.

L'exposition des moules à de faibles concentrations d'oxygène (2 mm Hg) et à des températures élevées (28°C) induit une déstabilisation des lysosomes de la glande digestive chez les individus de tout âge. Cependant, seules les jeunes moules (2-4 ans) ont retrouvé leur intégrité lysosomiale après réimmersion contrairement aux moules plus âgées (Hole *et al.*, 1995). Ainsi, la récupération dépend de l'âge des moules.

L'activité antibactérienne contre des pathogènes spécifiques diminue en période de reproduction et de ponte des mollusques (Li *et al.*, 2007; Samain *et al.*, 2007).

2.7.5 Qualités/inconvénients du test

Outre les contaminants, plusieurs facteurs peuvent influencer la modulation du système immunitaire (Brousseau *et al.*, 1997). Par exemple, la capture, le transport, le prélèvement et autres manipulations des organismes peuvent occasionner un stress et ainsi modifier leur réponse immunitaire. Il faut donc faire extrêmement attention à l'interprétation des résultats des différents tests immunologiques. En effet, un individu apparemment stressé en apparence, n'a pas nécessairement été soumis à un polluant, mais a pu être stressé par les manipulations d'échantillonnage. De plus, il s'avère ardu de trouver la cause exacte d'un stress étant donné que le système immunologique répond à une large gamme d'agents stressants.

Plusieurs méthodes de détermination de la phagocytose ont un temps de réponse assez long (Blaise *et al.*, 2002a) et requièrent une certaine expertise de laboratoire.

Ces tests peuvent être non létaux car l'hémolymphe est prise dans le muscle adducteur ou une autre partie des bivalves à l'aide d'une seringue, ce qui leur laisse généralement la vie sauve (Hégaret *et al.*, 2004).

Sensible aux polluants, aux substances chimiques et aux métaux (Fournier *et al.*, 2000), la phagocytose semble être un indice prometteur comme biomarqueur (Bouchard *et al.*, 1999; Brousseau *et al.*, 2000; Fournier *et al.*, 2002). De plus, c'est une fonction conservée et maintenue au cours du processus évolutif chez toutes les espèces (Fournier *et al.*, 2000). Cette activité est facilement mesurée par des méthodes standardisées chez une grande variété d'espèces (Brousseau *et al.*, 1999). La stabilité lysosomale semble aussi présenter un avantage en tant que bioindicateur puisque les lysosomes sont le site des premiers changements détectables suite à un événement stressant chez les organismes marins (Moore, 1985). On pourrait ainsi les qualifier d'indicateurs précoces.

2.8 RÉSERVES ÉNERGÉTIQUES

2.8.1 Introduction

Les bivalves emmagasinent l'énergie essentiellement sous forme de glucides et de lipides dont les concentrations varient en fonction de ce que l'organisme a préalablement ingéré et assimilé. En effet, la disponibilité et la qualité de la nourriture influenceront les réserves énergétiques. Un autre facteur faisant varier les réserves énergétiques est l'investissement nécessaire à leurs fonctions physiologiques. Dans le cas d'une perturbation environnementale, la demande énergétique peut être accrue pour combattre les effets négatifs du stress sur l'organisme. Un organisme doit dépenser davantage d'énergie pour lutter contre les effets du stress, i.e. pour maintenir son homéostasie interne. Ainsi, les réserves énergétiques principales des bivalves, le glycogène chez les juvéniles et les adultes et les lipides chez les larves, sont considérées comme des bio-indicateurs des changements environnementaux et de la capacité des bivalves à résister au stress (Pernet *et al.*, 2003; Patrick *et al.*, 2006).

2.8.2 Bivalves étudiés

Tableau 8 : Quelques études des réserves énergétiques chez quelques bivalves

Indicateur	Espèces	Agent stressant	Références
Protéines	<i>Venerupis philippinarum</i>	Saison et site d'élevage	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons	Bressan et Marin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Okumus et Stirling, 1998
	<i>Mytilus trossolus</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
		Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> , 2000
<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996	
Glucides	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons	Bressan et Marin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Okumus et Stirling, 1998
	<i>Mytilus trossolus</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
		Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004

	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> , 2000
	<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996
	<i>Crassostrea gigas</i>	Nourriture et température	Patrick <i>et al.</i> , 2006
Lipides	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons	Bressan et Marin, 1985
		Habitats	Freites <i>et al.</i> , 2002a
	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Okumus et Stirling, 1998
		Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
<i>Mytilus trossolus</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004	
	<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996
Acides gras	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Habitats (disponibilité de nourriture)	Freites <i>et al.</i> , 2002b
		<i>Mercenaria mercenaria</i>	Température

2.8.3 Quelques méthodes d'analyse

Soudant *et al.* (2004) ont utilisé une analyse de protéines Bio-Rad DC basée sur la méthode de Lowry *et al.* (1951) et qui utilise la lecture d'une densité optique sur microplaques.

Bressan et Marin (1985) ont déterminé la quantité de lipides en faisant la différence de poids entre les tissus des moules avant et après l'extraction des lipides par éther de pétrole dans un extracteur Soxhlet. Ces auteurs ont aussi mesuré les glucides et les protéines selon les méthodes de Fales (1951) et Lowry *et al.* (1951)

L'analyse des acides gras et des lipides totaux par Freitas *et al.* (2002b) s'est fait selon la méthode de Bligh et Dyer (1959) modifiée par Fernández-Reiriz *et al.* (1989) par chromatographie gazeuse et ionisation par flamme.

Freitas *et al.* (2002a) ont déterminé les différentes classes de lipides chez la moule par chromatographie sur couche mince suivie d'une lecture par un scanner-densitométrique. Ces mesures ont été effectuées par Pernet *et al.* (2003) en chromatographie sur silice (Iatroscan) suivie d'une détermination sur ionisation par flamme.

2.8.4 Quelques résultats obtenus

Les saisons et le site d'élevage influencent la concentration en protéines de *V. philippinarum* (Soudant *et al.*, 2004). De plus, leur concentration est corrélée positivement avec l'indice de condition.

Chez *M. galloprovincialis*, les glucides sont présents en concentrations maximales en été et minimales en hiver. Les protéines ont un patron plutôt irrégulier au fil des saisons. Les

lipides sont les moins concentrés à la fin du printemps et en hiver tandis que des concentrations maximales sont observées en début printemps et en été (Bressan et Marin, 1985).

Les concentrations des acides gras d'importance physiologique chez les moules provenant d'un habitat rocheux transférées dans un habitat subtidal et comparées avec des moules originaires de ce dernier habitat ne sont pas les mêmes. Ceci peut être dû au temps d'alimentation plus court en milieu rocheux comparativement à l'habitat subtidal ainsi qu'à la qualité et la quantité de nourriture disponible (Freites *et al.*, 2002b).

Pendant les 36 premiers jours de l'expérience de Feites *et al.* (2002a), le pourcentage relatif de triacylglycérols ainsi que la concentration absolue de phospholipides et de stérols sont plus élevés chez les moules provenant d'un habitat subtidal que chez des moules provenant d'un habitat rocheux. Ce résultat peut s'expliquer par des différences de conditions environnementales entre les deux milieux. Pernet *et al.* (2006) ont observé des patrons variables des grandes classes de lipides et des profils en acides gras dans les tissus de la palourde *Mercenaria mercenaria* en fonction de la saison.

2.8.5 Qualités/inconvénients du test

Bien que les réserves énergétiques nous renseignent sur l'état physiologique des bivalves, de nombreux facteurs peuvent influencer leurs concentrations. Certains de ces facteurs sont

des variations dans les conditions environnementales (température, quantité et qualité de la nourriture...) ainsi qu'à l'exposition à des polluants. Par contre, le cycle de reproduction fait grandement varier les réserves énergétiques des bivalves en influençant le cycle accumulation-consommation des réserves énergétiques, faisant ainsi varier leur concentration dans les différents tissus au fil du temps. Ainsi, l'utilisation des réserves énergétiques comme indice de stress nécessite une bonne connaissance de la physiologie de l'organisme étudié et de son état reproducteur au moment des mesures. De plus, les concentrations peuvent varier d'une espèce à l'autre. Il existe aussi une différence entre les tissus d'un même organisme. Chez les mollusques, le glycogène est surtout emmagasiné dans la glande digestive et le manteau. Des variations saisonnières des réserves énergétiques peuvent aussi survenir et dépendent, entre autres, de la latitude. Ces réserves sont influencées par la température et la disponibilité du phytoplancton.

Ainsi, l'utilisation de l'état des réserves énergétiques comme indicateur de la vitalité de l'organisme et de l'état de son environnement semble avoir un certain potentiel. Cependant, il reste très difficile de ne relier ces réserves qu'à la pollution ou à un autre facteur de stress environnemental spécifique.

2.9 CARACTÉRISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DE BASE

2.9.1 Introduction

Face à un agent stressant, certaines caractéristiques physiologiques peuvent être modifiées (croissance, taux de filtration, consommation d'oxygène, taux de respiration, excrétion, développement des gonades, etc.). L'indice de condition a aussi été mis au point dans le but de renseigner sur l'état de l'individu, de la population ou de la communauté et d'identifier des anomalies de croissance et de reproduction. On retrouve aussi les indices hépatosomatiques et gonadosomatiques, le taux de remplissage de la coquille (*Flesh condition index*) (Lobel et Wright, 1982; Soto *et al.*, 1995), la taille de la coquille et le temps de survie à un facteur de stress (Eertman et DeZwann, 1994).

L'allocation énergétique à la croissance et à la reproduction (AECR, *Scope for Growth*) est un autre indicateur intégrateur qui mesure la quantité d'énergie disponible pour l'ensemble des fonctions métaboliques une fois que les besoins énergétiques du métabolisme de base ont été comblés. La formule suivante permet de calculer cette énergie disponible (P) pour la croissance et la reproduction (Widdows et Johnson, 1988):

$$P = A - (R+E) \quad (5)$$

où A est l'énergie assimilée à partir de la nourriture, R est celle utilisée pour la respiration et E est celle perdue lors de l'excrétion. Lorsque P est positif, l'individu a de l'énergie pour investir dans sa reproduction et sa croissance, contrairement à un individu ayant un P

négalif qui signifie qu'il doit utiliser ses réserves énergétiques pour le simple maintien de son métabolisme de base (Le Gal *et al.*, 1997).

Dernièrement, l'état reproducteur a été ajouté à cet indice physiologique pour intégrer l'ensemble des processus énergétiques chez un bivalve. Ce nouvel indice développé à partir d'un modèle existant (Kooijman, 1986) se nomme le budget énergétique dynamique ou DEB (Pouvreau *et al.*, 2006).

2.9.2 Bivalves étudiés

Tableau 9 : Caractéristiques physiologiques de bases comme indicateurs chez quelques bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Croissance	<i>Venerupis philippinarum</i>	Saisons et site d'élevage	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Lyropecten nodosus</i>	Nourriture	Freites <i>et al.</i> , 2003
	<i>Mytilus edulis</i>	Émersion et température élevée	LeBlanc <i>et al.</i> , 2005
	<i>Mya arenaria</i>	Salinité, qualité et quantité de nourriture	Matthiessen, 1960
		Turbulence, vitesse, profondeur de perturbation du sédiment	Emerson, 1990
		Taille initiale, densité, type de prédation	Beal et Kraus, 2002

Indice de condition	<i>Venerupis philippinarum</i>	Saisons et site d'élevage	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons, cycle reproducteur	Bressan et Marin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Okumus et Stirling, 1998
Taux de consommation d'oxygène	<i>Mytilus edulis</i>	Âge, hypoxie et hyperthermie	Hole <i>et al.</i> , 1995
		Âge, taille, salinité, température, émergence	Sukhotin <i>et al.</i> , 2003
		Nourriture, température, reproduction et génétique	Tremblay <i>et al.</i> , 1998c
	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, température, zone intertidale	Bayne <i>et al.</i> , 1976
	<i>Macoma balthica</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972
	<i>Mulinia lateralis</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972
<i>Mya arenaria</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972	
Taux de filtration	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, température, zone intertidale	Bayne <i>et al.</i> , 1976
	<i>Mytilus edulis</i>	Vitesse du courant et concentration en seston	Newell <i>et al.</i> , 2001
	<i>Mytilus</i> spp.	Température	Cusson <i>et al.</i> , 2005
	<i>Cardium edule</i> , <i>M. edulis</i> , <i>M. arenaria</i>	Nourriture	Rissgrad <i>et al.</i> , 2003

Excrétion d'ammoniaque	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, zone intertidale	Bayne <i>et al.</i> , 1976
Fréquence cardiaque	<i>Mytilus californianus</i>	Température	Bayne <i>et al.</i> , 1976
Taux de consommation du phytoplancton	<i>Mytilus edulis</i>	Vitesse du courant	Fréchette, 1989
	<i>Atrina zelandica</i>	Fortes concentrations de seston, reproduction	Hewitt et Pilditch, 2004
Indice de la glande digestive	<i>Mytilus edulis</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus trossolus</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
Survie	<i>Mytilus edulis</i>	Émersion et température élevée	LeBlanc <i>et al.</i> , 2005
Allocation énergétique à la croissance et à la reproduction (AECR)	<i>Mytilus edulis</i>	Nourriture, température, reproduction et génétique	Tremblay <i>et al.</i> , 1998c
Relations allométriques et gonadosomatiques	<i>Placopecten magellanicus</i>	Reproduction	Bonardelli et Himmelman, 1995
Budget énergétique dynamique	<i>Crassostrea gigas</i>	Pathologie, température, nourriture, reproduction et génétique	Samain <i>et al.</i> , 2007
			Pouvreau <i>et al.</i> , 2006

2.9.3 Méthodes d'analyse

Pour leur indice de condition (IC), Soudant *et al.* (2004) ont utilisé la formule suivante d'après Mann et Glomb (1978) :

$$IC = \frac{\text{poids sec des tissus (mg)}}{\text{poids sec de la coquille (mg)}} \times 100 \quad (6)$$

Kagley *et al.* (2003) ont calculé un indice de condition de la taille (BCI) selon la formule suivante :

$$BCI = \frac{\text{poids des tissus (g)}}{\text{Longueur coquille (mm)}} \times 100 \quad (7)$$

Pour leur part, Bressan et Marin (1998) ont calculé un indice de condition (CI) des moules selon la formule suggérée par Hopkins (1949) :

$$CI = \frac{\text{poids sec des tissus (g)}}{\text{volume de la cavité de la coquille (ml)}} \times 100 \quad (8)$$

Pour déterminer le taux de consommation d'oxygène des moules suite à une augmentation de la température en situation hypoxique, Hole *et al.* (1995) ont utilisé la méthode de Widdows et Shick (1985). Pour leur part, Bayne *et al.* (1976) ont utilisé deux techniques soit celle de Winkler sur le terrain et soit à l'aide d'un respiromètre en laboratoire où le taux de réduction de la tension d'oxygène de l'eau a été déterminé avec des électrodes à oxygène.

La fréquence cardiaque a été mesurée grâce à des électrodes insérées à travers la coquille et placées près du péricarde (Bayne *et al.*, 1976). Ces électrodes étaient associées à un pneumographe à impédance. Les variations de l'impédance causées par les battements du cœur ont été amplifiées pour permettre un enregistrement direct du rythme cardiaque.

Le taux de filtration est mesuré dans des chambres fermées ou en flux continu. On mesure directement la diminution de nourriture dans les chambres fermées. Les mesures en chambres ouvertes sont basées sur la différence de concentrations des particules à l'entrée et à la sortie des chambres grâce à un compteur de particule électronique ou par une sonde à fluorescence (Bayne *et al.*, 1976; Fréchette, 1989). Des chambres expérimentales sans animaux servent de contrôle. L'estimation exacte du taux de filtration par les différentes techniques est encore débattue dans la littérature (Bayne, 2001 et 2004; Riisgard, 2001 et 2004; Riisgrad *et al.*, 2006).

Le taux d'excrétion d'ammoniaque est déterminé par l'accumulation d'ammoniaque dans le temps en comparant avec une chambre de contrôle sans animal. Les concentrations sont déterminées par la méthode phénol-hypochlorite décrite par Grasshoff et Johannsen (1972) (Bayne *et al.*, 1976; Widdows et Johnson, 1988) ou à l'aide d'une sonde électronique.

La croissance des pétoncles a été mesurée chez *L. nodosus* par Freites *et al.* (2003) pendant une période de faible production primaire et de haute température en absence de courant

ascendant. Les poids secs des muscles, gonades, glandes digestives et autres tissus ont été utilisés ainsi que la hauteur de la coquille comme indices de croissance.

2.9.4 Quelques résultats obtenus

L'indice de condition calculé par Soudant *et al.* (2004) varie en fonction de la saison d'échantillonnage. L'indice de condition calculé par Bressan et Marin (1985) est à son maximum au début du printemps et pendant l'été tandis que les valeurs sont minimales à la fin du printemps et l'hiver.

Le temps de survie des organismes en émergence caractérise détermine leur tolérance à l'anoxie (Eertman et DeZwann, 1994). Par exemple, la tolérance de *Mytilus edulis* à des conditions d'émergence est réduite par une exposition à des contaminants (Veldhuizen-Tsoerkan *et al.*, 1991; Eertman *et al.*, 1993). Sa tolérance est également déterminée par ses caractéristiques génétiques (Myrand *et al.*, 2002; David *et al.*, 2005)

Il y a une diminution de la valeur des indices physiologiques (AEER et DEB) chez différentes espèces de bivalves lors de l'exposition à des polluants (Gilfillan, 1975; Gilfillan *et al.*, 1976; Gilfillan *et al.*, 1977; Gilfillan et Vandermeulen, 1978; Widdows *et al.*, 1981; Widdows *et al.*, 1982; Martin et Severeid, 1984; Martin, 1985; Widdows *et al.*, 1985; Widdows *et al.*, 1987; Widdows et Johnson, 1988; Donkin *et al.*, 1989; Granmo *et al.*, 1989; Butler *et al.*, 1990; Nelson, 1990; Widdows *et al.*, 1990; Widdows et Donkin,

1991; Widdows et Page, 1992; De Kock et Bowmer, 1993). Ces indices répondent également aux variations de nourriture, à la température, à l'effort reproducteur, au niveau d'infection et aux caractéristiques génétiques des individus (Tremblay *et al.*, 1998c; Pouvreau *et al.*, 2006; Samain *et al.*, 2007).

L'indice de condition de taille utilisé par Kagley *et al.* (2003) augmente aux sites contaminés et non contaminés lors de la période de ponte des moules, mais l'augmentation a été plus marquée dans aux sites non contaminés.

Les taux de consommation d'oxygène mesurés par Hole *et al.* (1995) suite à l'exposition à une hausse de température ainsi qu'à de faibles concentrations d'oxygène ont augmenté de façon similaire aux moules témoins chez les plus jeunes moules. Par contre, chez les moules plus âgées, le taux de consommation d'oxygène reste élevé même 12 heures après le retour à des conditions normales.

La consommation d'oxygène chez *M. californianus* ne varie pas suite à un changement de température, mais elle diminue en période de jeûne. Par contre, la fréquence cardiaque est dépendante de la température. Le taux de filtration augmente avec la température, mais diminue à 26°C. Ce paramètre diminue également en période de jeûne. Le ratio de la consommation d'oxygène sur l'excrétion d'ammoniaque est faible et diminue en période de jeûne (Bayne *et al.*, 1976).

Freites *et al.* (2003) ont trouvé des différences de croissance et de survie significatives entre deux sites expérimentaux. Les pétoncles maintenus à l'intérieur de la baie de Turpialito dans le Golfe de Cariaco au Venezuela, site présentant une plus grande disponibilité de phytoplancton et la plus grande quantité de matière organique particulaire comparativement au site à l'extérieur de cette baie, ont montré une croissance et une survie supérieure aux pétoncles de l'autre site expérimental.

Le taux de consommation du phytoplancton par les moules varie en fonction du courant (Newell *et al.*, 2001).

2.9.5 Qualités/inconvénients du test

L'AECR présente une certaine gradation dans la réponse de l'état optimal à léthal, ce qui permet d'établir une relation quantitative avec le niveau de stress. Le temps de réponse est relativement court (quelques jours à quelques semaines). Sa mesure est cependant assez complexe car elle nécessite l'estimation de plusieurs fonctions physiologiques et nécessite des équipements sophistiqués. Bien que les indices de condition soient sensibles à la présence de polluants, ils sont aussi sensibles à toutes conditions biotiques et abiotiques (Bayne *et al.*, 1985). Ainsi, la température (Widdows et Bayne, 1971; Widdows, 1978; Scholnick, 1995), les saisons (Jokela, 1996, Soudant *et al.*, 2004), la salinité (Stickle et Sabourin, 1979; Baillieul *et al.*, 1996), la concentration en oxygène dissous (Diaz et al., 1992; Scholnick, 1995), le type de nourriture disponible (Griffiths et King, 1979; Staikou et

Lazaridou-Dimitriadou, 1989; Graca *et al.*, 1993; Vedel et Riisgard, 1993; Jacobsen et Sand-Jensen, 1994), la taille et le stade de développement (Widdows, 1978; Rombough, 1994; Hughes, 1995), l'état reproducteur (Hughes, 1995), les caractéristiques génétiques (Staikou et Lazaridou-Dimitriadou, 1989; Qian et Davies, 1994) ainsi que la densité des populations (Ray et Stoner, 1994) sont tous des facteurs pouvant faire varier l'AECR.

Les indices de condition basés sur les mesures de masse sont aussi sensibles aux facteurs de stress potentiel, mais sont aussi très corrélés avec le cycle reproducteur ce qui induit un facteur confondant. Par contre, les différents indices de condition sont des mesures biologiques relativement simples et peu coûteuses. Les indices de conditions sont des indicateurs intégrant une longue période de temps. Ce ne sont pas des indicateurs qui répondent rapidement à une situation stressante. Ils ne peuvent donc pas être utilisés de la même façon que les indicateurs physiologiques qui répondent très rapidement.

2.10 MARQUEURS COMPORTEMENTAUX

2.10.1 Introduction

Les bivalves sont très diversifiés et très bien adaptés à leur milieu. Certaines espèces de bivalves sont endobenthiques et d'autres sont épibenthiques. Ainsi, certains s'enfouissent dans le substrat tandis que d'autres vivent en surface et peuvent même s'attacher plus ou moins solidement au substrat ou sur les objets présents. Certaines espèces comme les pétoncles ont le pouvoir de se déplacer relativement rapidement pour fuir un prédateur. Ainsi, il existe une grande variété d'adaptations comportementales des bivalves à leur milieu en fonction de l'espèce. Des perturbations environnementales ou les diverses phases de leur cycle vital peuvent induire un changement de comportement. Ces variations peuvent être facilement et rapidement détectables par certains indices. L'expression d'un comportement requiert une certaine quantité d'énergie. En cas de stress, moins d'énergie est disponible pour ce comportement. Un indicateur comportemental donné caractérise un comportement essentiel à un moment précis du cycle de production maricole. Par exemple, il est essentiel que les jeunes myes puissent s'enfouir rapidement au moment de leur ensemencement, que les jeunes moules s'attachent rapidement et solidement au substrat d'élevage au moment du boudinage et que les pétoncles puissent nager et se remettre à l'endroit pour fuir leurs prédateurs après leur ensemencement. Les indices comportementaux appropriés aux besoins du cycle de production maricole devraient être utiles pour la prise de décision pendant les opérations.

2.10.2 Bivalves étudiés

Tableau 10 : Indicateurs comportementaux étudiés chez quelques bivalves

Indicateur	Espèces	Agent stressant	Référence
Retournement	<i>Pecten maximus</i>	Dragage (simulation)	Maguire, 2003
Aptitudes de retournement (redressement)	<i>Pecten maximus</i>	Émersion et répétition non-stop du retournement	Fleury et Mary, 2003
Récupération et capacité de retournement	<i>Pecten maximus</i>	Manipulation, dragage, émersion et transport	Maguire <i>et al.</i> , 1999, 2002 a, b Minchin <i>et al.</i> , 2000
Récupération	<i>Mizuhopecten yessoensis</i>	Diminution de la salinité et de l'oxygène et exposition aux détergents synthétiques	Tyurin, 1991
Force du muscle	<i>Placopecten magellanicus</i>	Exposition à l'air	Nadeau <i>et al.</i> , 2008 Fleury <i>et al.</i> , 2005
Mouvements des valves	<i>Anodonta cygnea</i>	Exposition au cuivre et au plomb	Salanki & Varanka, 1976
Fermeture de la coquille	<i>Mytilus edulis</i>	Émersion Exposition à un contaminant Vitesse du courant et concentration de seston	Coleman & Trueman, 1971 Kramer <i>et al.</i> , 1989 Newell <i>et al.</i> , 2001
Mouvements des valves	<i>Dreissena polymorpha</i> <i>Cerastoderma edule</i> <i>Cerastoderma glacum</i> <i>Corbicula fluminea</i> <i>Euvola zizac</i>	Émersion Émersion Émersion Reproduction	Sluyts <i>et al.</i> , 1996 Boyden, 1972 Boyden, 1972 Byrne <i>et al.</i> , 1990 Brokordt <i>et al.</i> , 2000

Réponse de fuite	<i>Euvola zizac</i> <i>Placopecten magellanicus</i>	Reproduction Température et émerision	Brokordt <i>et al.</i> , 2000 Lafrance <i>et al.</i> , 2002
Enfouissement	<i>Corbicula fluminea</i>	Émersion	Byrne <i>et al.</i> , 1990
	<i>Macoma balthica</i>	Type de sédiment, hypoxie et présence de prédateurs Saisons	Tallqvist, 2001 De Goeij et Luttikhuizen, 1998 Zwarts et Wanink, 1993 Piersma <i>et al.</i> , 1994 Zwarts <i>et al.</i> , 1994
	<i>Mya arenaria</i>	Taille, granulométrie du substrat et température	Pfitzenmeyer et Drobeck, 1967
	<i>Tagelus dombeii</i>	Disponibilité de nourriture, température, salinité	Lardies <i>et al.</i> , 2001
	<i>Venus antiqua</i>	Disponibilité de nourriture, température, salinité	Lardies <i>et al.</i> , 2001
	<i>Scrobicularia plana</i>	Taille	Zwarts <i>et al.</i> , 1994
	<i>Spisula solida</i>	Dragage	Chicharo <i>et al.</i> , 2003
	<i>Venerupis decussates</i>	Cuivre	Stephenson & Taylor, 1975
	<i>Pecten maximus</i>	Émersion et répétition non-stop du retournement	Fleury et Mary, 2003

Aire du siphon exhalant	<i>Mytilus edulis</i>	Vitesse du courant et concentration de seston	Newell <i>et al.</i> , 2001
Nombre de filaments de byssus	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et hydrodynamisme Émersion, taille, agitation mécanique, salinité Température, salinité, hydrodynamisme, saisons	Moeser <i>et al.</i> , 2006 Van Winkle, 1970 Young, 1985
	<i>Modiolus demissus</i>	Émersion, taille, agitation mécanique, salinité	Van Winkle, 1970
Nombre de byssus et vitesse de production	<i>Mytilus edulis</i> L.	Courants	Lee <i>et al.</i> , 1990
Force d'attachement	<i>Mytilus edulis</i>	Hydrodynamisme, cycle de reproduction Hydrodynamisme, saisons, habitat, taille Taille et courant Température, hydrodynamisme	Carrington, 2002 Hunt et Scheibling, 2001 Lachance <i>et al.</i> , 2008 Lee <i>et al.</i> , 1990 Price, 1982
	<i>Mytilus trossolus</i>	Hydrodynamisme, saisons, habitat, taille	Hunt et Scheibling, 2001

2.10.3 Méthodes d'analyse

Pour les expériences de retournement et d'enfouissement, Fleury et Mary (2003) ont analysé la moyenne logarithmique des temps de réponse.

Maguire (2003) a étudié le comportement des pétoncles en les marquant et en les plaçant à l'envers dans un bassin contenant 10 cm de sédiment alimenté avec de l'eau de mer en recirculation. Les temps de retournement et de récupération étaient notés toutes les 12 heures pendant 72 heures. Les pétoncles étaient considérés comme ayant récupéré complètement (recouvert par le substrat = 3), ayant semi-récupéré (à moitié recouvert = 2), s'étant retourné (mais pas recouvert du tout = 1) ou non (= 0). La somme des pointages individuels était calculée pour chaque période d'échantillonnage.

Denny (1987), Bell et Gosline (1997), Hunt et Scheibling (2001), Carrington (2002) et Lachance *et al.* (2008) ont utilisé un dynamomètre auquel était attaché un crochet inséré dans la coquille des mollusques. Les moules étaient tirés à 90° du substrat jusqu'à ce qu'elles soient complètement détachées. Carrington (2002) a ensuite déterminé la ténacité (Ten) permettant de résister aux forces de détachement en milieu intertidal avec la formule suivante :

$$\text{Ten} = \text{Force d'attachement (N)} / A_{\text{pl}} (\text{m}^2) \quad (4)$$

où A_{pl} correspond à l'aire elliptique calculée à partir de la hauteur et de la largeur de la coquille comme axes majeur et mineur. Le dynamomètre est également utilisé pour déterminer la force du muscle des pectinidés (Fleury *et al.*, 2005; Nadeau *et al.*, 2008).

Lee *et al.* (1990) ont compté le nombre filaments produits sous un courant constant par cinq classes de taille de moules bleues toutes les 12 heures pendant 84 heures. Ils ont ensuite soumis des moules des 4 classes de taille à trois vitesses de courant pour ainsi tester l'effet de l'hydrodynamisme et de la taille des individus sur la production de byssus.

2.10.4 Quelques résultats obtenus

Fleury et Mary (2003) n'ont pas observé de corrélation entre les fréquences de retournement ni le temps d'enfouissement de la coquille Saint-Jacques et la taille des animaux (18-38 mm).

Maguire (2003) a trouvé que les pétoncles ayant subi un stress ont eu besoin d'un temps (6 heures) de repos plus long avant de redevenir actifs, de se retourner et de s'enfouir. Il en est de même suite à une émergence.

Carrington (2002) et Lachance *et al.* (2008) ont trouvé que la force d'attachement des moules n'est pas constante au cours des saisons. En général, la tenacité et la force d'attachement sont corrélées avec les fluctuations saisonnières du mouvement de l'eau (turbulence et hauteur des vagues) suggérant que cette force d'attachement fluctue selon l'hydrodynamisme de leur environnement. Ensuite, l'attachement est plus faible en période de gamétogénèse avancée et/ou de ponte en réponse à un investissement énergétique orienté davantage vers le développement des gonades.

Les plus grandes moules produisent davantage et plus rapidement des filaments de byssus que les plus petites en eau stagnante. Par contre, lorsqu'il y a du courant, les moules plus petites ont tendance à reconstituer leurs filaments plus rapidement (Lee *et al.*, 1990).

2.10.5 Qualités/inconvénients du test

Les indicateurs comportementaux sont des indices généralement facilement applicables et qui donnent des réponses rapides et ne demandant pas d'investissements financiers trop importants. Par contre, il est nécessaire de bien connaître les variations saisonnières naturelles chez l'espèce étudiée. Leur fiabilité et leur sensibilité face à différents agents stressants restent à être testées. Par contre, certains indices semblent avoir été validés comme le démontrent les tests de retournement et d'enfouissement de la coquille Saint-Jacques, dont la sensibilité et la fiabilité semblent acceptables. Ces tests semblent assez sensibles puisque les individus « fatigués » par une émergence prolongée ont montré des temps de réponse plus longs (Fleury et Mary, 2003). Certains animaux répondent différemment aux tests selon le moment de la journée. De plus, il est possible qu'il y ait une sorte d'apprentissage lors des premiers enfouissements et retournements et que les tests successifs entraînent une stabilité des réponses. Ainsi, les épreuves doivent être répétées sur un effectif suffisant. La force du muscle chez les pectinidés semble avoir un potentiel intéressant pour évaluer la vitalité d'un individu. Toutefois, le protocole expérimental nécessite d'être très bien établi et suivi (Nadeau *et al.* 2008).

2.11 CONCLUSION

Cette revue de littérature montre qu'il n'existe pas d'indice de vitalité universel malgré la panoplie existante. Ainsi, il est sans doute préférable de se référer à une batterie d'indicateurs situés à différents niveaux d'organisation et réalisés sur des effectifs importants pour améliorer la sensibilité, parfois au détriment de la rapidité. Cette mesure de plusieurs indices demande un long temps de réponse ce qui les rend moins attrayants dans le cadre des opérations maricoles courantes. La quantité de tissus nécessaire par individu est souvent trop importante pour permettre de mesurer plus d'un paramètre à la fois de sorte que la mise au point de microméthodes permettrait de réduire les coûts en diminuant le volume d'échantillon nécessaire (diminution des sacrifices) en plus d'améliorer la qualité de l'information fournie. La plupart des biomarqueurs proposés dans la littérature sont le fruit de recherches fondamentales qui nécessitent l'utilisation de matériel sophistiqué et la mise en œuvre de protocoles lourds, difficiles à réaliser *in situ* et nécessitant beaucoup d'argent. Ces indices sont donc très peu utilisés en aquaculture.

Les indices portant sur des fonctions générales de l'organisme comme les tests de comportement (force d'attachement, enfouissement, redressement...) ou physiologiques (force musculaire, maintien de l'herméticité de la coquille...) prennent en compte une grande part de l'état physiologique des animaux. Ce sont des indices plus globaux qui sont

donc avantageux puisqu'ils permettent de déterminer une vitalité au plus large spectre d'aptitudes possibles au détriment, par contre, d'une compréhension fine des facteurs de stress et de leurs effets sur l'organisme.

De nombreux facteurs peuvent faire varier l'intensité de réponses des différents indicateurs comme l'espèce, l'âge, le sexe, l'état reproducteur, les caractéristiques génétiques et le stock d'origine. Il est donc extrêmement important de bien connaître l'espèce visée, en conditions normales (sans stress) et les variations liées aux cycles biologiques des organismes étudiés. Ainsi, pour avoir un portrait juste de l'état de vitalité des organismes et de la qualité de leur environnement, des informations sur la nature des réponses suite à un stress seront requises telles que le seuil létal des agents stressants, le niveau de référence habituel, la variabilité intra et inter-spécifiques ainsi que inter saisons et inter sites.

Because of the microquantities of tissues, it was impossible to use the same specimen's tissues for all the biochemical analyses. So, glycogen analyses were made on 5 other specimens randomly chosen per tank and per emersion period and determined by colorimetry and spectrophotometry (Spectro Beckman DU 640) according to Carr and Neff (1984).

3.2.6 Statistical Analysis

The mussels' behavioural experiment (number of threads produced) was run in triplicates (3 different tanks) of 25 mussels by emersion period. Because some mussels did not produce any byssal thread on the vertical plates after 22h of reimmersion, the attachment strength was determined on 15 randomly chosen mussels which had produced threads per emersion period. The percentage of totally burrowed clams out of the 25 clams was calculated for each tank and provided triplicate values for each emersion period. Burrowing initiation was only determined for clams which burrow completely during the 4 hours of reimmersion. Twenty completely burrowed clams were randomly chosen to quantify the average time required to initiate burrowing. For the biochemical analysis, 5 mussels or clams per tank (replicate) per emersion time were analyzed. For the behavioural analysis, one-way ANOVAs were used to compare the effect of the emersion period on the number of byssal threads produced, the attachment strength of mussels as well as the percentage of clams completely burrowed and the burrowing initiation time. When significant differences were observed, a Dunnett t-test comparison followed by a sequential Bonferroni correction was used to evaluate which emersion period provoked a different behaviour from the one

observed in control specimens (which did not go under any emersion). Factorial ANOVAs (main factors: emersion duration and tissues) were used for the biochemical analyses. When needed, datas were log10- or square root-transformed to respect test conditions. Residus distribution's normality was analysed with a Kolmogorov-Smirnov non parametric test. All statistical analysis were performed using Systat 11 (Systat Software Inc, San Jose, CA, USA).

3.3 Results

3.3.1 Water Analysis

Temperature and salinity were similar from one treatment to another for both species. Mean water temperature in the three tanks during the mussels experiment was $10.25 \pm 0.05^{\circ}\text{C}$ while the salinity was stable at 31.17 ± 0.03 . Concentrations of total and organic seston during this experiment were 0.60 ± 0.14 mg/l and 0.51 ± 0.01 mg/l. During the clam experiment, mean water temperature was 12.82 ± 0.19 °C and salinity was 31.04 ± 0.03 . Total and organic seston concentrations were 0.84 ± 0.10 mg/l and 0.38 ± 0.06 mg/l.

3.3.2 Behavioural Analysis

For *Mytilus edulis*, the duration of air exposition showed a significant effect only on the total number of byssal threads produced (Table 12).

Table 12: ANOVA results of the behavioural responses of *M. edulis* and *M. arenaria* according to the period of air exposition

Species	Dependant Variables	df	F	P Level
<i>Mytilus edulis</i>	Number of byssal threads	6	4.859	0.007*
	Force by byssal thread	6	0.438	0.841
<i>Mya arenaria</i>	% fully burrowed clams after 4 hours of reimmersion	5	0.330	0.885
	Burrowing initiation time	5	2.344	0.105

Only the mussels kept emerged for 24 h and 48 h produced a greater number of byssal threads (Figure 11) than the control mussels ($p < 0.001$) after reimmersion. No particular pattern was observed between the number of threads produced and the duration of air exposure. Moreover, the strength per byssal thread was similar for all periods of air exposure, including the control (Table 12). The overall mean force was 0.085 ± 0.004 SE N per thread.

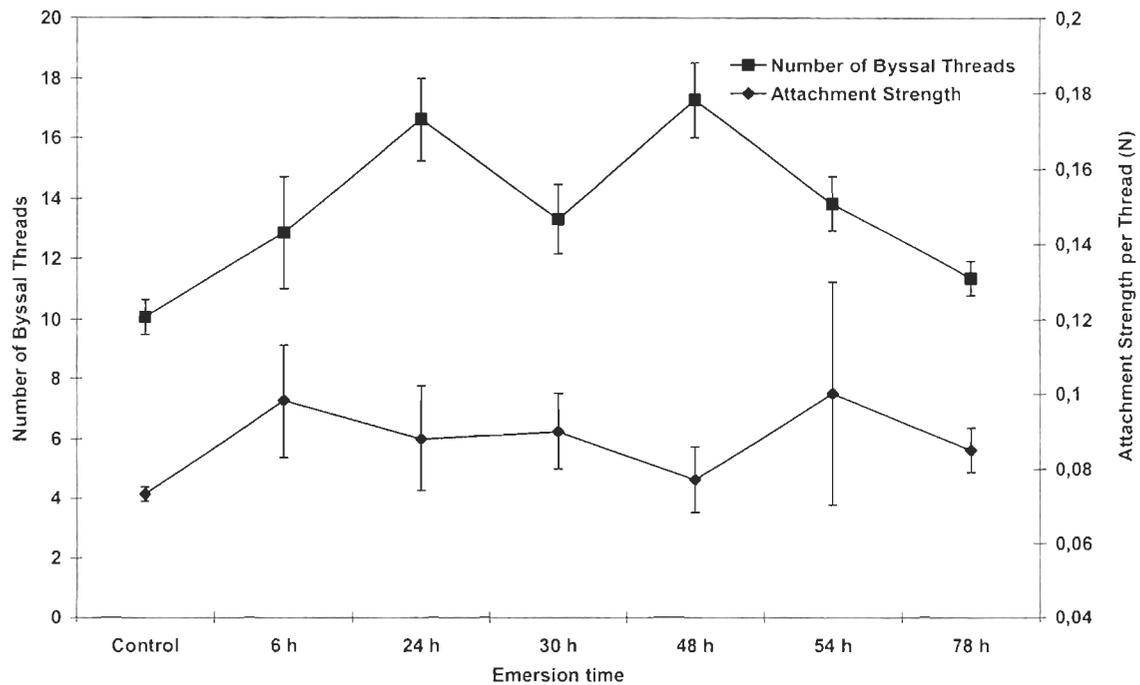


Figure 11: Number of byssal threads produced and force per byssal thread in control mussels and mussels air exposed for different times (Average per air exposure time \pm Standard Error)

For *Mya arenaria*, the percentage of individuals per tank which were completely burrowed per tank after reimmersion following potentially stressing air exposure was not significantly different among treatments (Table 12; Figure 11) and overall, the mean was 85.8 ± 1.9 SE %. The time required for clams to initiate burial neither was related to air exposure duration (Table 12; Figure 12). During the four hours of reimmersion, no buried clams became unburrowed. Nevertheless, many clams crawled on the sandy substrate did not burrow immediately or not at all during the course of the experiment.

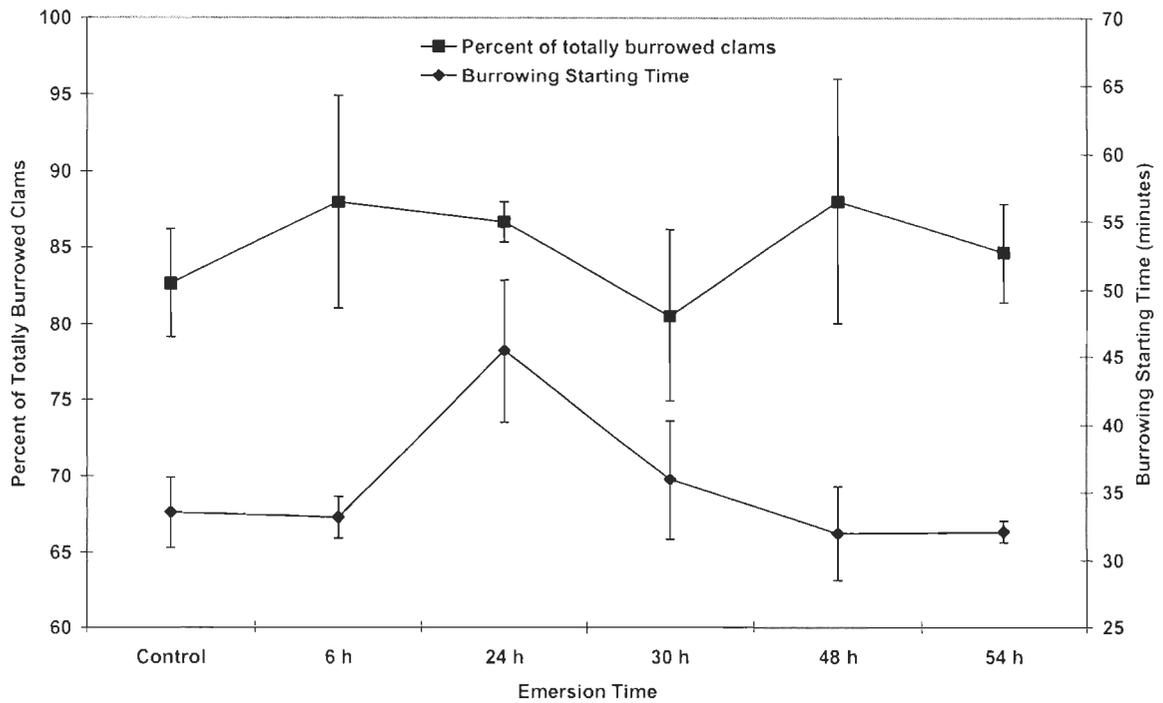


Figure 12: Burrowing starting time of *M. arenaria* when reimmerged for four hours after different air exposition times (Mean \pm Standard Error)

3.3.3 Biochemical analysis

For both species, there were no significant interactions between tissues and immersion and also no effect on the emersion duration on the various biochemical parameters (Tables 13 and 14). However, the concentrations of the various biochemical compounds in the digestive gland of mussels were significantly different from those found in the remaining tissues except for the glycogen. Percentage of TAG, TAG/PL and TAG/ST ratio were higher in the digestive gland while %ST, %PL and proteins were higher in the remaining tissues (Table 15).

For *Mya arenaria*, except for TAG/PL ratio, protein content and glycogen, the distribution of the energetic components was different between both groups of tissues (Table 14). Percentage of TAG and TAG/ST ratio were higher in the digestive gland while percentage of ST and PL were higher in the remaining tissues (Table 15).

Table 13: Anova results of the biochemical responses of *M. edulis* to a 78 hours air exposure according to tissues.

Dependant Variables	Factors	n	df	F	P Level
TAG/ST	Emersion	12	1	0.376	0.557
	Tissues		1	8.750	0.018*
	Emersion*Tissues		1	0.069	0.799
TAG/PL	Emersion	12	1	0.025	0.877
	Tissues		1	14.197	0.005*
	Emersion*Tissues		1	0.032	0.862
% TAG	Emersion	12	1	0.031	0.865
	Tissues		1	14.107	0.006*
	Emersion*Tissues		1	0.215	0.655
% ST	Emersion	12	1	0.000	0.993
	Tissues		1	22.144	0.002*
	Emersion*Tissues		1	0.711	0.424
% PL	Emersion	12	1	0.055	0.820
	Tissues		1	26.271	0.001*
	Emersion*Tissues		1	0.084	0.779
Proteins	Emersion	12	1	0.673	0.436
	Tissues		1	8.556	0.019*
	Emersion*Tissues		1	0.508	0.496
Glycogen	Emersion	12	1	0.131	0.726
	Tissues		1	3.223	0.110
	Emersion*Tissues		1	0.091	0.770

Table 14: Anova results of the biochemical responses of *M. arenaria* to a 54 hours air exposure according to tissues.

Dependant Variables	Factors	n	df	F	P Level
TAG/ST	Emersion	12	1	0.173	0.689
	Tissues		1	22.827	0.001*
	Emersion*Tissues		1	0.008	0.929
TAG/PL	Emersion	12	1	1.866	0.209
	Tissues		1	2.228	0.174
	Emersion*Tissues		1	0.024	0.881
% TAG	Emersion	12	1	0.011	0.919
	Tissues		1	16.451	0.004*
	Emersion*Tissues		1	0.067	0.803
% ST	Emersion	12	1	2.146	0.181
	Tissues		1	55.595	0.000*
	Emersion*Tissues		1	0.001	0.980
% PL	Emersion	12	1	0.482	0.507
	Tissues		1	33.738	0.000*
	Emersion*Tissues		1	0.774	0.405
Proteins	Emersion	12	1	4.448	0.068
	Tissues		1	0.068	0.800
	Emersion*Tissues		1	0.579	0.468
Glycogen	Emersion	12	1	1.313	0.285
	Tissues		1	5.264	0.051
	Emersion*Tissues		1	0.112	0.747

Table 15: Average values and standard error of the different biochemical parameters analysed in the digestive gland and in all the other tissues of *M. edulis* and *M. arenaria*

	Parameters	Average \pm Standard Error	
		Digestive Gland	All Other Tissues
<i>M. edulis</i>	% TAG	55.7 \pm 7.2	24.1 \pm 2.6
	% ST	3.0 \pm 0.6	6.7 \pm 0.4
	% PL	22.0 \pm 3.9	46.9 \pm 2.0
	TAG/PL	43.4 \pm 11.0	2.3 \pm 0.2
	TAG/ST	5.1 \pm 1.9	0.7 \pm 0.1
	Glycogen ($\mu\text{g/g}^*$)	40.8 \pm 4.3	26.6 \pm 3.0
	Proteins (mg/g^*)	6.6 \pm 0.3	8.6 \pm 0.6
<i>M. arenaria</i>	% TAG	17.4 \pm 1.8	8.4 \pm 0.9
	% ST	5.4 \pm 0.4	9.9 \pm 0.4
	% PL	42.3 \pm 2.0	65.3 \pm 3.2
	TAG/PL	9.4 \pm 1.5	7.5 \pm 0.7
	TAG/ST	3.4 \pm 0.45	0.9 \pm 0.1
	Glycogen ($\mu\text{g/g}^*$)	7.9 \pm 1.2	13.3 \pm 1.9
	Proteins (mg/g^*)	4.5 \pm 0.3	4.3 \pm 0.5

* Per gram of wet weight of tissue

3.4 Discussion

Emersion effect

In this study, the duration of air exposure (≤ 78 h for mussels and ≤ 54 h for clams) did not have any significant effect on the attachment of mussels and the burial of clams except for the number of byssal threads produced by mussels when reimmersed. The number of byssal threads produced after 24 and 48 h air exposure was significantly higher with about 16 to 17 compared to 10 threads respectively than for the control (no emersion). Nevertheless, the exact count of byssal threads was very difficult to determine because they were thin and had a tendency to stick together and to be hidden behind the shell. Handling of the mussels reimmersed had to be minimal to avoid them to unglue from the plastic plates and to avoid the dislodgment of the adhesive plates of the byssus to be able to do the subsequent attachment strength measurements. Thus, it was impossible to move the shells or to try to pull apart the filaments from each other to have a better count. Handling mussels was then avoided during the counts because of the fragility of the newly made threads. In a previous study, Pariseau (2007) found that a 4-hours air exposure under the sun did not slow down clams from burrowing compared to controls. Our results suggest that emersion of 54h for clams and 78h for mussels at 10°C and 100% humidity are not significant stress events according to their behaviour. Another possible explanation is that the behavioural indices examined (byssal production and burrowing) in the present study are not good indicators of vitality for mussels and clams.

More than just depriving bivalves from breathing, air exposure deprives them from eating and might add a desiccation stress. During this period, mussels and clams must rely on their anaerobic metabolism (de Zwaan and Wijsman, 1976; Schick *et al.*, 1986; Zange *et al.*, 1989; Sobral and Widdows, 1997; Babarro *et al.*, 2007) which leads to an important metabolic depression (Shick & Widdows, 1981; LeMoullac *et al.*, 2007). The energetic cost during anaerobiosis energetic loss can represent only 4% of the normal investments in the blue mussel (Widdows, 1988). During emersion, metabolic activities are reduced to a minimum to resist to this stress until reimmersion. Nevertheless, when mussels are air-exposed, they show a gaping behaviour (periodic opening and closing of the shells) providing them with a low oxygen renewal of oxygen in the tissue (Kennedy, 1976; Widdows *et al.*, 1979; Guderley *et al.*, 1994). When reimmersed, the mussel increases its rate of respiration in an attempt to repay the oxygen debt associated with the end products of the anaerobic metabolism (Zandee *et al.*, 1986). When reimmersed, mussels and clams could start filtering and eating. Food transfer between digestive gland and other tissues takes around 7-10 days in summer and fall, but can be up to 35 days in winter when there is not a lot of food (Thompson *et al.*, 1974).

The emersion duration did not have any effect on the different energetic components analyzed. This result is in agreement with Harding *et al.* (2004) who found that dry storage (emersion) of mussels at high humidity and 2-4°C for a period up to 12 days followed by a 24 h reimmersion can reduce stress response and provide a better quality products with longer shelf life. Our biochemical results suggest that our experimental emersion treatments

(time, humidity and temperature) were not stressing events for blue mussels and softshell clams or that mussels and clams had time to recover when reimmersed. Almeida *et al.* (2005) found that emersion of *Perna perna* for 24 h caused a clear increase in the levels of lipid peroxidation oxidative DNA damage. Nevertheless, when these mussels were reimmersed in seawater for three hours, the levels of damage to lipids and DNA went back to control values. Hole *et al.* (1995) also found that 2-4 years-old blue mussels exposed to a 24 h hypoxia and hyperthermia (28 °C) showed lysosomal destabilisation, but their metabolic rate returned to control levels 12h after reimmersion. Similar results were observed in intertidal condition for *M. edulis* and *M. arenaria* (Tremblay and Pellerin-Massicotte, 1997). So, it might be possible that mussels and clams were stressed by emersion but their subsequent reimmersion brought them back to control levels. In this context, the intensity and duration of stress events could have been insufficient to be measured by the chosen indicators chosen (energetic reserves and behaviour).

Tissues effect

Differences were observed in most biochemical concentrations among the two tissue groups depending of the component. The TAG percentage was higher in the digestive gland than in the remaining tissues for both species. TAG is an important energy source for bivalves since the digestive gland is the site for food digestion, energy storage and distribution of metabolic reserves, our results suggest that mussels and clams had enough energy available to resist against physiological stress (Sastry and Blake, 1971; Gabbott and

Bayne, 1973; Vassalo, 1973; Thompson *et al.*, 1974; Gabbott, 1976). This TAG concentration can be probably explained by the accumulation of plankton previously ingested and during the réimmersion period, which is rich in TAG (Gabbott, 1976; Caers *et al.*, 2000)

Percentages of structural lipids (ST and PL) were lower in the digestive gland than in the remaining tissues. These tissues use their energy for growth which could explain why these structural lipids are more abundant in these tissues than in the digestive gland which is an energetic storage organ. It is also known that a large portion of lipids in adult bivalves are phospholipids (Lubet and Le Feron de Longchamp, 1969; Gardner and Riley, 1972, Moreno *et al.*, 1976; Krishnamoorthy *et al.*, 1978).

Glycogen concentration was the same for both groups of tissues in the blue mussel. In *M. arenaria*, glycogen content in the remaining tissues was almost twice higher than in the digestive gland. It might be explained by the fact that glycogen content, in *Mya arenaria*, is increased in the mantle when abundant food is available (Gabbott et Bayne, 1973), suggesting that clams stored glycogen before emersion. Eventhough clams were not supposed to be sexually mature, small individuals (25-39 mm) may have a limited fertility and can reproduce (Brousseau, 1978; Roseberry *et al.*, 1991). Then, it is possible that glycogen was invested in their gonadal development.

3.5 Conclusion

Our results suggest that an emersion duration of 2-3 days at 10°C and 100% humidity is probably not stressful enough to be measured using the chosen behaviour indicators. A longer emersion period, higher temperatures or dryer environment during emersion or another kind of stressful event could have an effect on the indicators studied. Thus, the use of these behavioral indicators for aquaculture purposes needs further investigation. Nevertheless, much behavioural indicators are interesting by their low costs and their facility to operate. These behavioural indicators are known to be influenced by temperature, salinity, food availability, size, and reproductive cycle (Matthiessen, 1960; Lardies *et al.*, 2001; Carrington, 2002; Pariseau, 2003, Lachance *et al.*, 2008). Results showed that emersion as long as 78h for mussels and 54h for clams, at low temperature (10°C) and preserved from dessication, has no effect on energetic reserves and capacity to produce byssus for mussels and to burry for clams. Thus, in shellfish aquaculture practices, maintenance of low temperature and humidity of mussels and clams during emersion periods for transfer of seeds to culture sites, will not affect vitality of shellfish and profitability of production.

CHAPITRE 4

DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le premier objectif de cette thèse était de faire une revue des différents types d'indicateurs existants à ce jour et de les caractériser quant à leur qualité globale en tant qu'indices de la vitalité des bivalves pour les opérations conchylicoles. De cette revue, nous concluons que les indices comportementaux s'avèrent intéressants en conchyliculture puisqu'ils sont simples et peu coûteux comparativement aux autres types d'indices de vitalité. Nous avons donc testé le potentiel des indicateurs de vitalité comportementaux chez deux espèces de bivalves faisant l'objet d'un élevage commercial aux Îles-de-la-Madeleine: la moule bleue (*Mytilus edulis*) et la mye commune (*Mya arenaria*). Nos observations n'ont pas permis de valider ces indices comportementaux dans le cadre d'une émergence telle que réalisée.

Différentes conclusions peuvent être tirées de ce travail, lesquelles sont résumées ci-dessous.

- 1) Il n'existe pas d'indice universel unique pour la vitalité des mollusques.
- 2) Plusieurs facteurs peuvent faire varier la réponse des bivalves lors d'un événement stressant sans pour autant que la vitalité de l'individu soit compromise.
- 3) Peu d'indices actuellement développés sont utiles et utilisables en conchyliculture que ce soit au niveau économique, technique et du temps de réponse requis. La plupart des indicateurs requièrent de l'équipement sophistiqué et une expertise

particulière, sont coûteux, ne mesurent qu'un petit nombre d'individus et ont un temps de réponse trop long pour le besoin des opérations.

- 4) Les indices comportementaux semblent les plus facilement utilisables et les mieux adaptés aux besoins de la conchyliculture, mais leur fiabilité, sensibilité et réponse en tant qu'indices de vitalités reste à être développées.
- 5) Une émergence des moules bleues jusqu'à 78 h ne modifie pas significativement leur force d'attachement comparativement à des moules gardées immergées (contrôle). Par contre, le nombre de filaments de byssus produits après des émergences de 24 et 48 h a été supérieur au nombre produit par les moules témoins. Aucune relation particulière n'a pu être établie entre le temps d'émergence et le nombre de filaments produits.
- 6) Une émergence chez des myes communes jusqu'à 54 h n'a pas modifié de façon significative leur comportement. Aucun effet de l'émergence n'a été noté sur le nombre de myes totalement enfouies ($85 \pm 1,9$ %) après 4 heures de réimmersion et sur le temps requis pour commencer leur enfouissement ($35,4 \pm 1,6$ minutes).
- 7) Les réserves énergétiques sont demeurées intactes après 78h d'émergence pour les moules et 54h d'émergence chez les myes. Ainsi, les bivalves ne semblent pas avoir eu recours à leurs réserves énergétiques.
- 8) Au niveau des lipides, les TAG sont plus abondants dans la glande digestive tandis que les ST et PL sont plus de deux fois plus élevés dans les autres tissus. Le ratio

TAG/ST est supérieur dans la glande digestive, tandis que le ratio TAG/PL est plus grand dans la glande digestive des moules et équivalent dans les 2 groupes de tissus chez *Mya arenaria*.

- 9) Le glycogène est égal dans tous les tissus chez la moule et la mye.
- 10) Les protéines sont légèrement plus abondantes dans les autres tissus que dans la glande digestive. Chez la mye, la quantité de protéines est similaire dans tous les tissus.
- 11) Les différents temps d'émersion subis en condition d'humidité élevée par ces deux espèces de bivalves ne semblent pas des situations très stressantes au niveau biochimique ni au niveau comportemental. La variation du nombre de filaments de byssus produits en fonction d'un temps d'émersion croissant ne semble pas être le résultat d'un stress pour la moule, ni être la conséquence sans être non plus la conséquence d'un changement de température, de salinité ou de nourriture dont les valeurs sont restées constantes pour chaque expérience. Bien que la variation du nombre soit statistiquement significative, la signification biologique n'est pas claire. En effet, le nombre de filaments de byssus quantifié a été probablement sous-estimé. La taille des byssus les rendait difficilement observables et leur tendance à s'agglutiner les uns aux autres rendait les décomptes individuels difficiles. Leur fragilité limitait les possibilités de manipulations en vue de les séparer pour identifier les différents filaments, particulièrement ceux localisés sous la moule. L'utilisation d'un binoculaire adapté aurait été utile en prenant grands soins de ne

pas bouger les moules pour ne pas détacher les filaments. Nous estimons la marge d'erreur à ± 5 filaments.

12) Bonne nouvelle pour les mytiliculteurs et myculteurs, une émerision prolongée (78h chez la moule et 54h chez la mye) du naissain à 100% d'humidité à 10°C n'altère pas la capacité des individus à s'attacher ou à s'enfouir, limitant ainsi les pertes de biomasse. Cette méthode d'entreposage moins compliquée et plus économique que l'entreposage dans l'eau pourrait être appliquée pendant une période pouvant atteindre 7 à 10 jours pour la moule (Harding *et al.*, 2004).

Perspectives

Bien que les différents indices biochimiques étudiés n'aient pas été affectés par l'émerision, d'autres indicateurs comme la MDA, le NRA ou les protéines de choc thermiques pourraient révéler des informations supplémentaires quant au stress subi par les organismes. Ceci permettrait de savoir si l'émerision testée était une source de stress ou non. Dans une perspective plus commerciale, il serait intéressant de tester ces mêmes réponses comportementales et biochimiques suite à une émerision qui serait précédée par les manipulations industrielles que les moules et myes doivent subir. En effet, le tri mécanique et le nettoyage peuvent affaiblir les moules (Slabyj, 1980; Warwick, 1984). Aussi, ces mêmes réponses devraient être étudiées à différentes températures de l'air et de l'eau ainsi qu'à différentes saisons. Dans l'optique où l'émerision subie serait un facteur de stress, d'autres indicateurs comportementaux de vitalité devraient être développés pour chacune des espèces étudiées puisque ceux analysés dans la présente étude ne semblent pas assez

sensibles pour détecter ce stress. Cependant, ce n'est pas parce qu'ils n'ont pas été assez sensibles pour tester un stress d'émergence dans les conditions de la présente étude qu'ils ne le seront pas à des conditions plus extrêmes comme par exemple une émergence à 20 ou 25 °C. Ces mêmes indicateurs comportementaux pourraient aussi être étudiés sous d'autres conditions stressantes qu'une émergence.

De plus, le développement d'indicateurs avec les caractéristiques de rapidité et facilité d'exécution, faibles coûts ainsi que sensibilité et fiabilité pourraient aussi intéresser les gestionnaires des ressources halieutiques pour le suivi de l'évolution des stocks, de l'état des animaux sauvages et de leur environnement. Puisque les bivalves sont relativement sessiles et élevés en abondance, ils sont accessibles et donc facilement étudiables pour contrer les mortalités et trouver les facteurs de stress.

LISTE DE RÉFÉRENCES

- ABBOTT, R. T., G. F. Sandström et H. S. Zim, 1982. « Guide des coquillages de l'Amérique du Nord: Guide d'identification sur le terrain », M. Broquet (ed.), La Prairie, Québec, 288 p.
- ABELE, D., K. Heise, H. O. Pörtner et S. Puntarulo, 2002. « Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria* », J. Exp. Biol., 205, 1831-1841
- AHNSTORM, G. et K. Erixon, 1980. « Measurement of strand breaks by alkaline denaturation and hydroxylapatite chromatography » dans E. C. Friedberg et P. C. Hanawalt (eds.) « DNA Repair, Vol 1, Part 1 », Marcel Dekker, Inc., New-York, 403-419
- AKERBOOM, T. P. M. et H. Sies, 1981. « Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathion mixed disulfides in biological samples », dans W. B. Jakoby (ed.), «Methods in Enzymology, Vol. 77 », Academic Press, San Diego, 373-382
- ALFARO, A. C., 2006. « Byssal attachment of juvenile mussels, *Perna canaliculus* affected by water motion and air bubbles », Aquaculture, 255, 357-361
- ALLEN, J. A.; M. Cook, D. J. Jackson, S. Preston et E. N. Worth, 1976. « Observations on the rate of production and mechanical properties of the byssus threads of *Mytilus edulis* L. », J. Mollusc. Stud., 42, 279-289
- ALMEIDA, E. A., A. C. D. Bairy, A. L. Dafre, O. F. Gomes, M. H. G. Medeiros and P. D. Mascio, 2005. « Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel (*Perna perna*) exposed to air and re-submersed », J. Exp. Mar. Biol. and Ecol., 318, 21-30
- AMIARD, J.-C. et R. P. Cosson, 1997. « Les métallothionéines » pp.53-66 dans « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Lagadic, L., T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade, Masson, Paris, 419 p.
- AMINOT, A. et M. Chaussepied, 1983. « Manuel des analyses chimiques en milieu marin », Centre national pour l'exploitation des océans, Paris, 395 p.
- ANDERSON, R. S., 1981. « Effects of carcinogenic and non-carcinogenic environmental pollutants on immunological functions in marine invertebrates » dans C. J. Dawe, J. C. Harshbarger, S. Kondo, T. Sagimura et S. Takayama (eds.), « Phylogenetic Approach to Cancer », Japan Scientific Society Press, Tokyo, 319-331

ANDERSON, R. S., L. M. Oliver et D. Jacobs, 1992. « Immunotoxicity of cadmium for the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin, 1971): effects on haemocyte chemiluminescence », *J. Shellfish Res.*, 11, 31-35

ATKINSON, D. E., 1968. « The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers », *Biochemistry*, 3, 4030-4034

BABARRO, J. M. F., U. Labarta et M. J. F. Reiriz, 2007. « Energy metabolism and performance of *Mytilus galloprovincialis* under anaerobiosis », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 87, 941-946

BADYAEV, A. V., K. R. Foresman et M. V. Fernandes, 2000. « Stress and developmental stability: vegetation removal causes increased fluctuating asymmetry in shrews », *Ecology*, 81, 336-345

BAILLIEUL, M., M. Selens et R. Blust, 1996. « Scope for growth and fitness of *Daphnia magna* in salinity-stressed conditions », *Func. Ecol.*, 10, 227-233

BALLARIN, L., D. M. Pampanin et M. G. Marin, 2003. « Mechanical disturbance affects haemocyte functionality in the Venus clam *Chamelea gallina* », *Comp. Biochem. Phys.*, 136A, 631-640

BAUDRIMONT, M., J. Metivaud, R. Maury-Brachet, F. Ribeyre et A. Boudou, 1997. « Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury », *Environ. Toxicol. Chem.*, 16, 2096-2105

BAYNE, B. L., 1965. « Growth and the delay of metamorphosis of the larvae *Mytilus edulis* », *Ophelia* 2, 1-47

BAYNE, B. L., 1976. « Marine mussels: their ecology and physiology », Cambridge University Press, 506 p

BAYNE, B. L., 2001. « Reply to comment by H.U. Rissgard », *Ophelia*, 54, 211

BAYNE, B. L., 2004. « Comparisons of measurements of clearance rates in bivalve molluscs », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 276, 305-306

BAYNE, B. L., C. J. Bayne, T. C. Carefoot et R. J. Thompson, 1976. « The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad », *Oecologia*, 22, 211-228

BAYNE, B. L., D. A. Brown, K. Burns, D. R. Dixon, A. Ivanovici, D. R. Livingstone, D. M. Lowe, N. M. Moore, A. R. D. Stebbing et L. Widdows, 1985. « The effect of stress pollution on marine animals », *Praeger Special Studies*, New-York, 384 p.

- BEAL, B. F. et M. G. Krauss, 2002. « Interactive effects of initial size, stocking density, and type of predator deterrent netting on survival and growth of cultured juveniles of the soft-shell clam, *Mya arenaria* L., in eastern Maine », *Aquaculture*, 208, 81-111
- BEBIANNO, M. J., J. A. Nott et W. J. Langston, 1993. « Cadmium in the clam *Ruditapes decussata* – The role of metallothioneins », *Aquat. Toxicol.*, 27, 315-333
- BEERS, R. F. et I. W. Sizer, 1952. « A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase », *J. Biol. Chem.*, 195, 133-190
- BEHRENS, W. A. et R. Madere, 1991. « Malonaldehyde determination in tissues and biological fluids by ion-pairing high-performance liquid chromatography », *Lipids*, 26, 232-236
- BELL, E. C. et J. M. Gosline, 1997. « Strategies for life in flow: tenacity, morphometry, and probability of dislodgment of two *Mytilus* species », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 159, 197-208
- BENSAUDE, O., 1992. « Protéines de choc thermique, transport de protéines dans le noyau et oncogénèse », *Médecine-Sciences*, 8, 710-713
- BITENSKY, L., R. S. Butcher et J. Chayen, 1973. « Quantitative cytochemistry in the study of lysosomal function » dans J. T. Dingle (ed.), « Lysosomes in biology and pathology, Vol. 3 », Elsevier, Amsterdam, p. 465-510
- BJORKSTEN, T., K. Fowler et A. Pomiakowski, 2000. « What does sexual trait FA tell us about stress? », *TREE*, 15, 163-166
- BLAISE, C., S. Trottier, F. Gagné, C. Lallement et P.-D. Hansen, 2002a. « Immunocompetence of bivalve hemocytes as evaluated by miniaturized phagocytosis assay », *Environ. Toxicol.*, 17, 3, 160-169
- BLAISE, C., F. Gagné, J. Pellerin, P. D. Hansen et S. Trottier, 2002b. « Molluscan shellfish biomarker study of the Quebec, Canada, Saguenay Fjord with the soft-shell clam, *Mya arenaria* », *Environ. Toxicol.*, 17, 170-186
- BLIGH, E. G. et W. J. DYER, 1959. « A rapid method of total lipid extraction and purification », *Can. J. Biochem.*, 37, 911-915
- BOGHEN, A. D., 1995. « Cold-water aquaculture in Atlantic Canada, Second Edition », Université de Moncton, Institut Canadien de Recherche sur le Développement Régional, Canada, 672 p.

BONARDELLI, J. C. et J. H. Himmelman, 1995. « Examination of assumptions critical to body component indices: application to the giant scallop *Placopecten magellanicus* », *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52, 2457-2469

BORDIN, G., J. McCourt, R. Cordeiro Raposo et A. R. Rodriguez, 1997. «Metallothionein-like metalloproteins in the Baltic clam *Macoma balthica*: Seasonal variations and induction upon metal exposure », *Mar. Biol.*, 129, 453-463

BOYDEN, C. R., 1972. « The behaviour, survival and respiration of the cockles *Cerastoderma edule* and *C. glaucum* in air », *J. Mar. Biol. Ass.*, 52, 661-680

BRADFORD, M.M., 1976. « A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding », *Anal. Biochem.*, 72, 248-254

BRADLEY, B. P. et J. B. Ward, 1989. « Detection of a major stress protein using a peptide antibody », *Mar. Environ. Res.*, 28, 471-475

BRESSAN, M. et M. G. Marin, 1985. « Seasonal variations in biochemical composition and condition index of cultured mussels (*Mytilus edulis* Lmk) in the lagoon of Venice (North Adriatic) », *Aquaculture*, 48, 13-21

BROKORDT, K. B., J. H. Himmelman, O. A. Nusetti et H. E. Guderley, 2000. « Reproductive investment reduces recuperation from exhaustive escape activity in the tropical scallop *Euvola zizac* », *Mar. Biol.* 137, 857-865

BROUSSEAU, D. J., 1978. « Spawning cycle, fecundity and recruitment in a population of soft-shell clam, *Mya arenaria*, from Cape Ann, Massachusetts », *Fish. Bull.* 76, 155-166

BROUSSEAU, P., N. Fugere, D. Coderre, D. Nadeau, G. Poirier et M. Fournier, 1997. « Evaluation of earthworm exposure to contaminated soil by cytometric assay of coelomocyte phagocytosis in *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta) ». *Soil Biol. Biochem.*, 29, 681-684

BROUSSEAU, P., Y. Payett, B. Blakley, H. Boermans, H. Tryphonas et M. Fournier, 1999. « Manual of Immunological Methods », CRC Press, 1999, Boston, USA, 141 p.

BROUSSEAU, P., J. Pellerin, Y. Morin, D. Cyr, B. Blakley, H. Boermans et M. Fournier, 2000. « Flow cytometry as a tool to demonstrate the disturbance of phagocytosis in the clam *Mya arenaria* following exposure to heavy metals », *Toxicology*, 142, 145-156

- BROWN, C. R. et Bomberger Brown, 1998. « Intense natural selection on body size and wing and tail asymmetry in cliff swallows during severe weather », *Evolution*, 52, 1461-1574
- BROWN, D. C., B. P. Bradley et K. T. Paynter, 1993. « The physiological effects of protozoan parasitism on the eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Induction of stress proteins », *J. Shellfish Res.*, 12, 135-136
- BROWN, D. C., B. P. Bradley et M. Tedengren, 1995. « Genetic and environmental regulation of HSP70 expression », *Mar. Environ. Res.*, 39, 181-184
- BUEGE, J. A. et S. D. Aust, 1978. « Microsomal lipid peroxydation » dans S. Fleischer et L. Packer (eds), « *Methods in Enzymology*, Vol. 52 », Academic Press, San Diego, 302-310
- BUTLER, R., B. D. Robbie et C. P. Mainstone, 1990. « The effects of sewage sludge on two life-history stages of *Mytilus edulis* », *Chem. Ecol.*, 4, 211-219
- BUU, B. et Y. Le Gal, 1989. « Réponse de la coque *Cardium edule* à l'intoxication par le cadmium », *Oceanis*, 15, 591-597
- BYRNE, R. A., E. Gnaiger, R. F. McMahon et T. H. Dietz, 1990. « Behavioral and metabolic responses to emersion and subsequent reimmersion in the freshwater bivalve, *Corbicula fluminea* », *Biol. Bull.*, 178, 251-259
- CAERS, M., P. Coutteau et P. Sorgeloos, 2000. « Impact of starvation and of feeding algal and artificial diets on the lipid content and composition of juvenile oysters (*Crassostrea gigas*) and clams (*Tapes philippinarum*) », *Mar. Biol.*, 136, 891-899
- CAI, J.-P., J.-T. Liu et Z. Whang, 2006. « Isolation, identification and pathogenicity of a pathogenic bacterium in mass-death of abalone (*Haliotis diversicolor*) postlarvae », *Fisheries Science/Shuichan Kexue*, 25 (7), 334-337
- CARBALLAL, M. J., C. Lopez, C. Azevedo et A. Villalba, 1997. « Enzymes involved in defense functions of hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis* », *J. Invertebr. Pathol.*, 70, 96-105
- CARLBERG, I. et B. Mannervik, 1985. « Glutathione reductase » dans A. Meister (ed.), « *Methods in Enzymology*, Vol. 113 », Academic Press, San Diego, 484-489
- CARR, R. S. et J. M. Neff, 1984. « Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen », *Comp. Biochem. Phys.*, 77B, 447-449

- CARRINGTON, E., 2002a. « The ecomechanics of mussel attachment: from molecules to ecosystems », *Int. Comp. Biol.* 42, 846-852
- CARRINGTON, E., 2002b. « Seasonal variation in the attachment strength of blue mussels : Causes and consequences », *Limnol. Oceanogr.*, 47, 1723-1733
- CARRINGTON-BELL, E. et M. W. Denny, 1994. « Quantifying wave exposure – A simple device for recording maximum velocity and results of its use at several field sites », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 181, 9-29
- CARTIER, S., J. Pellerin, M. Fournier, E. Tamigneaux, L. Girault et N. Lemaire, 2004. « Use of an index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossolus*) digestive gland weight to assess the nutritional quality of mussel farm sites », *Aquaculture*, 241, 633-654
- CHECA, A. G. et G. C. Cadée, 1997. « Hydraulic burrowing in the bivalve *Mya arenaria* Linnaeus (Myoidea) and associated ligamental adaptations », *J. Moll. Stud.*, 63, 157-171
- CHENEY, D.P., B. F. MacDonald et R. A. Elston, 2000. « Summer mortality of pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg): initial findings on multiple environmental stressors in Puget Sound, Washington, 1998 », *J. Shellfish Res.* 19, 353–359
- CHENG, T. C., 1981. « Bivalves », dans N. A. Ratcliffe et A. F. Rowley (eds.), « *Invertebrate Blood Cells 1* », Academic Press, London, 233-300
- CHENG, T. C., 1988. « *In vivo* effects of heavy metals on cellular defense mechanisms of *Crassostrea virginica*: phagocytic and endocytic indices », *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 215-220
- CHENG, T. C. et J. T. Sullivan, 1984. « Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes », *Mar. Environ. Res.*, 14, 305-315
- CHEVARIE, L. et B. Myrand, 2003. « Programme de recherche et développement en myiculture aux Îles-de-la-Madeleine (programme MIM) », *Compte rendu 2000-2002*, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Gaspé, Québec, 118 p.
- CHEVARIE, L. et B. Myrand, 2007. « Programme de recherche et développement en myiculture aux Îles-de-la-Madeleine (programme MIM) 2004 », Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, DIT, *Compte rendu n°30*, 46 p.
- CHEVARIE, L., B. Myrand, F. Bourque, M. Giguère, L. Provencher, P. Archambault, R. Tremblay, J. Pariseau et G. Desrosiers, 2003. « Programme MIM : A new program to

develop soft-shell clam (*Mya arenaria*) culture in Îles-de-la-Madeleine (Gulf of St. Lawrence) », AAC, Special Publication, Number 6, pp. 49-52

CHEVARIE, L., B. Myrand et R. Tremblay, 2007. « Grow-out of soft-shell clams, *Mya arenaria*, before seeding », A.A.C. Spec. Publ., 12, 39-39.

CHICHARO, M. A., A. Amaral, S. Condinho, F. Alves, J. Regala, M. Gaspar et L. Chicharo, 2003. « Adenylic-derived indices and reburying time as indicators of the effects of dredging-induced stress on the clam *Spisula solida* », Marine Biology, 142, 1113-1117

CHIPPINDALE, A. K. et A.R. Palmer, 1993. « Persistence of subtle departures from symmetry over multiple molts in individual brachyuran crabs: relevance to developmental stability », Genetica, 89, 185-199

CHU, F. L. E. et J. F. La Peyre, 1989. « Effect of environmental factors and parasitism on hemolymph lysozyme and protein of American oysters (*Crassostrea virginica*) », J. Invertebr. Pathol., 54, 224-232

CLARKE, M., 1999. « The effect of food availability on byssogenesis by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) », J. Mollusc. Stud., 65, 327-333

COCHRANE, B. J., R. B. Irby et T. W. Snell, 1991. « Effects of copper and tributyltin on stress protein abundance in the rotifer *Brachionus plicatilis* », Comp. Biochem. Physiol., 98 C, 385-390

COLEMAN, N. et E. R. Trueman, 1971. « The effect of aerial exposure on the activity of the mussels *Mytilus edulis* (L.) and *Modiolus modiolus* (L.) », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 7, 295-304

COLES, J. A., S. R. Farley et R. K. Pipe, 1994. « The effects of fluoranthene on the immunocompetence of the common marine mussel, *Mytilus edulis* », J. Aquat. Toxicol., 30, 367-379

COLES, J. A., S. R. Farley et R. K. Pipe, 1995. « Alteration of the immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium », Dis. Aquat. Org., 22, 59-65

COLLIN, R., 1997. « Ontogeny of subtle skeletal asymmetries in individual larvae of the sand dollar *Dendraster excentricus* », Evolution, 51, 999-1005

COMBS, C. A. et W. R. Ellington, 1995. « Graded intracellular acidosis produces extensive and reversible reductions in the effective free energy change of ATP hydrolysis in a molluscan muscle », J. Comp. Physiol. B, 165, 203-212

COSSU, C., A. Doyotte, M.-C. Jacquin et P. Vasseur, 1997a. « Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques », pp.149-163 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.

COSSU, C., A. Doyotte, M.-C. Jacquin et P. Vasseur, 1997b. « Mécanismes de formation et effets des espèces réactives de l'oxygène », pp.125-147 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.

COTE, I. M., 1995. « Effects of predatory crab effluent on byssus production in mussels », J. Exp. Mar. Biol. Ecol, 188, 233-241

COYNE, K. J., X.-X. Qin et J. H. Waite, 1997. « Extensible collagen in mussel byssus : A natural block copolymer », Science, 277, 1830-1832

CRUZ-RODRIGUEZ, L. A., F. L. Chu et P. Soudant, 2000. « Stress protein (Hsp70) response in oysters *Crassostrea virginica* exposed to various stress agents », J. Shellfish Res., 19:598

CSALLANY, A. S., D. M. Guan, J. D. Manwaring et P. B. Addis, 1984. « Free malonaldehyde determination in tissues by high-performance liquid chromatography », Anal. Biochem., 42, 277-283

CSMOPM (Comité sectoriel de la main d'œuvre en pêches maritime), « Guide de démarrage d'une entreprise maricole ». (Page consultée le 10 avril 2008) [En ligne]. Adresse URL : <http://www.csmopm.qc.ca/bibliotheque.htm>

CUSSON, M., R. Tremblay, G. Daigle et M. Roussy, 2005. « Modeling the depuration potential of blue mussels (*Mytilus* spp.) in response to thermal shock », Aquaculture, 250, 183-193

DAHLHOFF, E. P., 2004. « Biochemical indicators of stress and metabolism: Applications for marine ecological studies », Annu. Rev. Physiol., 66, 183-207

DAVID, E., A. Tanguy, K. Pichavant et D. Moraga, 2005. « Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions », FEBS Journal, 272, 5635-5652

DE GOEIJ, P. et P. Luttikhuisen, 1998. « Deep-burying reduces growth in intertidal bivalves : field and mesocosm experiments with *Macoma balthica* », J. Exp. Mar. Biol. Ecol, 228, 327-337

DE KOCK, W. C. et C. T. Bowmer, 1993. « Bioaccumulation, biological effects and food chain transfer of contaminants in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) dans T. F. Nalepa et D. Schloesser (eds.), « Zebra Mussels: Biology, Impacts and Control », Lewis Publishers, Boca Raton, 503-533

DE LAFONTAINE, Y., F. Gagné, C. Blaise, G. Costan, P. Gagnon et H.M. Chan. 2000. « Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St. Lawrence River (Canada) ». *Aquat. Toxicol.*, 50: 51-71

DE ZWAAN, A. et T. C. M. Wijsman, 1976. « Anaerobic metabolism in *Bivalvia* (Mollusca): Characteristics of anaerobic metabolism », *Comp. Biochem. Physiol.*, 54B, 313-324

DE ZWAAN, A., R. J. Thompson et D. R. Livingstone, 1980. « Physiological and biochemical aspects of the valve snap and valve closure responses in the giant scallop *Placopecten magellanicus*, II, Biochemistry », *J. Comp. Physiol.*, 137, 105-114

DEL MAESTRO, R. et W. McDonald, 1987. « Distribution of superoxyde dismutase, glutathione peroxidase and catalase in developing rat brain », *Mech. Age. Develop.*, 41, 29-38

DEL RAMO, J., A. Torreblanca, M. Martinez, A. Pastor et J. Diaz-Mayans, 1995. « Quantification of cadmium-induced metallothionein in crustaceans by the silver-saturation method », *Mar. Environ. Res.*, 39, 121-125

DENNY, M. W., 1987. « Lift as a mechanism of patch initiation in mussel bed », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 113, 231-245

DHAINAUT, A., J. Bonaly, J.-Ph. Barque, C. Minier et Th. Caquet, 1997. « Protéines de choc thermique et résistance multixénobiotique », pp.67-95 dans « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Lagadic, L., T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade, Masson, Paris, 419 p.

DIAZ, R. J., R. J. Neubauer, L. C. Schaffner, L. Pihl et S. P. Baden, 1992. « Continuous monitoring of dissolved oxygen in a estuary experiencing periodic hypoxia and the effect hypoxia on macrobenthos and fish », *Sci. Tot. Environ.*, Suppl., 1055-1068

DODGE, H., 1952. « A historical review of the mollusks of Linnaeus, I, The classes of Loricata and Pelecypoda », *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 100, 1-264

DOLMER, P., 1998. « The interaction between bed structure of *Mytilus edulis* L. and the predator *Asterias rubens* L. », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 228, 137-150

DOLMER, P. et I. B. Svane, 1994. « Attachment and orientation of *Mytilus edulis* L. in flowing water », *Ophelia*, 40, 63-74

DONKIN, P., J. Widdows, S. V. Evans, C. M. Worrall et M. R. Carr, 1989. « Quantitative structure-activity relationships for the effects hydrophobic organic chemicals on rate of feeding by mussels (*Mytilus edulis*) », *Aquat. Toxicol.*, 14, 277-294

DOYOTTE, A., C. Cossu, M.-C. Jacquin, M. Babut et P. Vasseur, 1997. « Antioxydant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio Tumidus* », *Aquat. Toxicol.*, 39, 93-110

DREW, B., D. Miller, T. Toop et P. Hanna, 2001. « Identification of expressed HSP's in blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach), during heat and salinity stresses », *J. Shellfish Res.*, 20, 695-703

DUNCAN, P. F., 1993. « Post-harvest physiology of the scallop *Pecten maximus* (L.) », PhD Thesis, University of Glasgow, Scotland, 184 p.

EERTMAN, R. H. M. et A. DeZwann, 1994. « Survival of the fittest: Resistance of mussels to aerial exposure » dans K. J. M. Kramer (ed.), « Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries », CRC Press, Boca Raton, FL, 269-284

EERTMAN, R. H. M., A. J. Wagenvoort, H. Hummel et A. C. Smaal, 1993. « Survival in air of the blue mussel *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 170, 179-195

ELLIS, R. J. et S. M. Vandervies, 1991. « Molecular chaperones », *Annu. Rev. Biochem.*, 60, 321-347

ELLIS, R.J., S. M. Vandervies et S. M. Hemmingsen, 1989. « The molecular chaperon concept », *Biochem. Soc. Symp.*, 55, 145-153

EMERSON, C. W., 1990. « Influence of sediment disturbance and water flow on the growth of the soft-shell clam, *Mya arenaria* L. », *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 47, 1655-1663

ESTERBAUER, H. et H. Zollner, 1989. « Methods for determination of aldehydic lipid peroxydation products », *Free Rad. Biol. Med.*, 7, 197-203

ESTERBAUER, H., J. Lang, S. Zadavec et T. F. Slater, 1984. « Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography » dans L. Packer (ed.), «Methods in Enzymology, Vol. 105 », Academic Press, San Diego, 319-328

FAIRBAIRN, D. W., P. L. Olive et K. L. O'Neill, 1995. « The comet assay: a comprehensive review », *Mutation Res.*, 339, 37-59

FALES, F. W., 1951. « The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells », *J. Biol. Chem.*, 193, 113-124

FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), 2006. Page consultée le 5 janvier 2009 [En ligne]. Adresse URL : <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/summary/b-1.pdf>

FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture). Page consultée le 2 avril 2008 [En ligne]. Adresse URL : <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production>

FERNÁNDEZ-REIRIZ, M. J., A. Perez-Camacho, M. J. Ferreiro, J. Blanco, M. Planas, M. J. Campos et U. Labarta, 1989. « Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalga », *Aquaculture*, 83, 17-37

FLEURY, P. G. et S. Mary, 2003. « Quelques indices de vitalité simples appliqués à la coquille Saint-Jacques européenne, *Pecten maximus* : aptitudes au retournement et à l'enfouissement », *Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada)*, 24 au 26 février 2003, p.61-66

FLEURY, P. G. et J. Mazurié 2003. « Vitalité, stress et risque de mortalité : comment les définir et comment les mesurer chez les Mollusques bivalves ? ». *Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada)*, 24 au 26 février, p.8-16

FLEURY, P. G., C. Mingant et A. Castillo, 1997. « A preliminary study of the behaviour of reseeded juvenile great scallops of three sizes in three seasons », *Aquacult. Int.*, 4, 325-337

FLEURY, P.-G., X. Janssoone, M. Nadeau et H. Guderley, 2005. « Force production during escape responses: Sequential recruitment of the phasic and tonic portions of the adductor muscle in juvenile sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin) », *J. Shellfish Res.*, 4, 905-911

FLOHE, L. et W. A. Gunzler, 1984. « Assays of glutathione peroxydase » dans L. Packer (ed.), « *Methods in Enzymology*, Vol. 105 », Academic Press, San Diego, 114-121

FOURNIER, M., D. Cyr, B. Blakley, H. Boermans et P. Brousseau, 2000. « Phagocytosis as a biomarker of immunotoxicity in wildlife species exposed to environmental xenobiotics », *Amer. Zoologist.*, 40, 412-420

- FOURNIER, M., J. Pellerin, M. Lebeuf, P. Brousseau, Y. Morin et D. Cyr, 2002. « Effects of exposure of *Mya arenaria* and *Mactromeris polynyma* to contaminated marine sediments on phagocytosis activity of hemocytes », *Aquat. Toxicol.*, 59, 83-92
- FOURNIER, M., J. Pellerin, D. Cyr, M. Lebeuf et P. Brousseau, 2003. « Utilisation de marqueurs immunologiques pour le suivi d'organismes vivants exposés à des substances toxiques ». Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.17-23
- FRÉCHETTE, M., 1989. « The importance of boundary-layer flows in supplying phytoplankton to the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis* L. », *Limol. Oceanogr.*, 34, 19-36
- FRÉCHETTE, M., 2003. « La dissymétrie de la coquille chez les bivalves : un outil à approfondir ? », Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.47-52
- FRÉCHETTE, M. et G. Daigle, 2002. « Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 270, 73-91
- FRÉCHETTE, M., P. Gouletquer et G. Daigle, 2003. « Fluctuating asymmetry and mortality in cultured oysters (*Crassostrea gigas*) in Marennes-Oléron Basin », *Aquat. Living Resour.*, 16, 339-346
- FREITES, L., M. J. Fernandez-Reiriz et U. Labarta, 2002a. « Lipid classes of mussel seeds *Mytilus galloprovincialis* of subtidal and rocky shore origin », *Aquaculture*, 207, 97-111
- FREITES, L., U. Labarta et M. J. Fernandez-Reiriz, 2002b. « Evolution of fatty acids profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, Lmf) – Influence of environmental parameters », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 268, 185-204
- FREITES, L., C. J. Lodeiros, N. Narvaez, G. Estrella et J. M. F. Babarro, 2003. « Growth and survival of the scallop *Lyropecten* (= *Nodipecten*) *nodosus* (L. 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela) during a non-upwelling period », *Aquacult. Res.*, 34, 709-718
- FRIES, C. R. et M. R. Tripp, 1980. « Depression of phagocytosis in *Mercenaria* following chemical stress », *Dev. Comp. Immunol.*, 4, 233-244
- FRETTER, V., 1968. « Studies in the structure, physiology and ecology of molluscs », The zoological society of London, Academic Press, 377 p.

GABBOT, P.A., 1976 "Energy metabolism", pp.293-355, dans B. L. Bayne (ed.) "Marine mussels: their ecology and physiology", Cambridge University Press, 506 p.

GABBOT, P. A. et B. L. Bayne, 1973. « Biochemical effects of temperature and nutritive stress on *Mytilus edulis* L. », J. Mar. Biol. Ass. UK, 52, 269-286

GAGNÉ, F., C. Blaise, J. Pellerin et S. Gauthier-Clerc, 2002. « Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord », Mar. Environ. Res., 53, 295-310

GAGNÉ, F., C. Blaise, J. Pellerin, E. Pelletier et J. Strand, 2006. « Health status of *Mya arenaria* bivalves collected from contaminated sites in Canada (Saguenay Fjord) and Denmark (Odense Fjord) », Ecotox. Environ. Safety, 64, 348-361

GARDNER, D. et J. P. Riley, 1972. « The component fatty acids of the lipids of some species of marine and freshwater molluscs », J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 52, 827-838

GERET, F., A. Serafim, L. Barreira et M. J. Bebianno, 2002. « Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus* », Biomarkers, 7, 242-256

GIESY, J. P., C. Duke, R. Bingham et S. R. Denzer, 1978. « Energy charges in several mollusca and crustaceans: Natural values and response to cadmium stress », Bull. Ecol. Soc. Amer., 59, 66

GIESY, J. P., S. R. Denzer, C. S. Duke et G. W. Dickson, 1981. « Phosphoadenylate concentrations and energy charge in two freshwater crustaceans: Responses to physical and chemical stressors », Verh.Internat. Verein. Limol., 21, 205-220

GIESY, J. P., C. Duke, R. Bingham, G. W. Dickson et G. J. Liversidge, 1983. « Changes in phosphoadenylate concentrations and adenylate energy charge as an integrated biochemical measure of stress in invertebrates: the effects of cadmium on the freshwater clam *Corbicula fluminea* », Environ. Toxicol. Chem., 6, 259-295

GILFILLAN, E. S., 1975. « Decrease in net carbon flux in two species of mussels caused by extracts of crude oil », Mar. Biol., 29, 53-58

GILFILLAN, E. S. et J. H. Vandermeulen, 1978. « Alterations in growth and physiology in chemically oiled soft-shell clams, *Mya arenaria*, chemically oiled with Bunker C from Chedabucto Bay, Nova Scotia, 1970-1976 », J. Fish. Res. Bd Can., 35, 630-636

GILFILLAN, E. S., L. C. Jiang, D. Donovan, S. Hanson et D. W. Mayo, 1976. « Reduction in carbon flux in *Mya arenaria* caused by a spill of No. 2 fuel oil », Mar. Biol., 37, 115-123

- GILFILLAN, E. S., D. W. Mayo, D. S. Page, D. Donovan et S. Hanson, 1977. « Effects of varying concentrations of petroleum hydrocarbons in sediments on carbon flux in *Mya arenaria* », dans F. J. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurberg et W. B. Vernberg (eds.), « Physiological Responses of Marine Biota to Pollutants », Academic Press, New York, 299-314
- GLUDE, J.B., 1974. « A summary report of Pacific coast oyster mortality investigations 1965–1972 ». Proc. 3rd U.S. Japan Meet. Aquac. Spec. Publ. Fish. Agency, Jap. Gouv. & Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab. Nigata, Tokyo, pp. 1–28
- GOSLINE, J., M. Lillie, E. Carrington, P. Guerette, C. Ortlepp et K. Savage, 2002. «Elastic proteins: biological roles and mechanical properties », Phil. R. Soc. Lond. B, 357, 121-132
- GOULLETQUER, P., P. Soletchnik, O. Le Moine, D. Razet, P. Geairon, N. Faury et S. Taillade, 1998. « Summer mortality of the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* in the Bay of Marennes–Oléron (France) », ICES Statutory Meeting, Population Biology, Mariculture Committee CM 1998/CC, pp. 14–20.
- GRACA, M. A. S., L. Maltby et P. Calow, 1993. « Importance of fungi in the diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus* : Effects on growth, reproduction and physiology », Oecologia, 96, 304-309
- GRANMO, A., R. Ekeland, K. Magnusson et M. Berggren, 1989. « Lethal et sublethal toxicity of 4-nonylphenol to the common mussel (*Mytilus edulis*) », Environ. Pollut., 59, 115-127
- GRANT, J., A. Hatcher, D. B. Scott, P. Pocklington, C. T. Schafer et G. V. Winters, 1995. « A multidisciplinary approach to evaluate impacts of shellfish aquaculture on benthic communities », Estuaries, 18, 124-144
- GRASSHOFF, K. et H. Johannsen, 1972. « A new, sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in seawater », J. Cons. Int. Explor. Mer., 34, 516-521
- GRAVATO, C., M. Oliveira et M. A. Santos, 2005. « Oxidative stress and genotoxic responses to resin acids in Mediterranean mussels », Ecotox. Env. Safe., 61, 221-229
- GRIFFITH, C. C. et J. A. King, 1979. « Energy expended on growth and gonad output in the ribbed mussel, *Amlacomya ater* », Mar. Biol., 53, 217-222
- GUDERLEY, H., A. Demers et P. Couture, 1994. « Acclimatization of blue mussel (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) to intertidal conditions: effects on mortality and gaping during air exposure », J. Shellfish Res., 13, 379-385

HANKS, R. W., 1963. « The soft-shell clam », Circular Wildlife and Fish Service, Washington, 162, 16 p.

HARDING, J. M., C. Couturier, G. J. Parsons et N. W. Ross, 2004. « Evaluation of the neutral red assay as a stress response indicator in cultivated mussels (*Mytilus* spp.) in relation to post-harvest processing activities and storage conditions », *Aquaculture*, 231, 315-326

HAWKINS, A. J. S. et B. L. Bayne, 1985. « Seasonal variation in the relative utilization of carbon and nitrogen by the mussel *Mytilus edulis* : Budgets, conversion efficiencies and maintenance requirements », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 25, 181-188

HAYA, K. et B. A. Waiwood, 1983. « Adenylate energy charge and ATPase activity: Potential biochemical indicators of sublethal effects caused by pollution in aquatic animals » dans J. O. Nriagu (ed.), « Aquatic toxicology », John Wiley, New York, 307-333

HAYA, K., C. E. Johnson et B. A. Waiwood, 1980. « Adenylate energy charge and ATPase activity in american lobster (*Homarus americanus*) from Belledune Harbour », *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sc.*, 963, 85-91

HAYA, K., B. A. Waiwood et D. W. Johnson, 1983. « Adenylate energy charge and ATPase activity of lobster (*Homarus americanus*) during sublethal exposure to zinc », *Aquat. Toxicol.*, 3, 115-126

HED, J., 1995. « Methods for distinguishing ingested from adhering particles », *Method Enzymol.*, 132, 198-204

HÉGARET, H., G. H. Wikfors, P. Soudant, M. delaporte, J. H. Alix, B. C. Smith, M. S. Dixon, C. Quère, J. R. Le Coz, C. Paillard, J. Moal et J.-F. Samain, 2004. « Immunological competence of eastern oyster, *Crassostrea virginica*, fed different microalgal diets and challenge with a temperature elevation », *Aquaculture*, 234, 541-560

HEWITT, J. E. et C. A. Pilditch, 2004. « Environmental history and physiological state influence feeding responses of *Atrina zelandica* to suspended sediment concentrations », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 306, 95-112

HICKMAN, R. W., 1992. « Mussel cultivation », dans E. M. Gosling (ed.) « The mussel *Mytilus* : ecology, physiology, genetics and culture », Elsevier, Galway, 465-504

HOCHWENDER, C. G. et R. S. Fritz, 1999. « Fluctuating asymmetry in a *Salix* hybrid system: the importance of genetic versus environmental causes », *Evolution*, 53, 408-416

HOFMANN, G. E., 2005. « Patterns of Hsp gene expression in ectothermic marine organisms on small to large biogeographic scales », *Int. Comp. Biol.*, 45, 247-255

- HOLE, L. M., M. N. Moore et D. Ballamy, 1995. « Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 122, 173-178
- HOOPER, A., R. W. Day, R. Slocombe, J. Handler et K. Benkerdorff, 2007. « Stress and immune responses in abalone: Limitations in current knowledge and investigative methods based on other models », *Fish. Shellfish Immunol.*, 22, 363-379
- HOPKINS, A. E., 1949. « Determination of condition of oysters », *Science*, 110, 567-568.
- HOSKEN, D. J., W. U. Blanckenhorn et P. I. Ward, 2000. « Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress », *J. Evol. Biol.*, 13, 919-926
- HUGHES, R. N., 1995. « Resource allocation, demography and the radiation of life history in rough periwinkles (Gastropoda) », *Hydrobiologia*, 309, 1-14
- HUNT, H. L. et R. E. Scheibling, 2001. « Predicting wave dislodgment of mussels: variation in attachment strength with body size, habitat, and season », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 213, 157-164
- HUNT, H. L. et R. E. Sheibling, 2002. « Movement and wave dislodgment of mussels on a wave-exposed rocky shore », *The Veliger*, 45, 273-277
- HUTCHINS, L. W., 1927. « The bases for temperature zonation in geographical distributions », *Ecol. Mono.*, 17, 325-335
- INGLIS, G. J. et N. Gust, 2003. « Potential indirect effects of shellfish culture on the reproductive success of benthic predators », *J. App. Ecol.*, 40, 1077-1089
- ISANI, G., R. Serra, O. Cattani, P. Cortesi et E. Carpena, 1997. « Adenylate energy charge and metallothionein as a stress indice in *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium and anoxia », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 77, 1187-1197
- IVANOVICI, A. M., 1979. « Adenylate energy charge: potential value as a tool for rapid determination of toxicity effects », *Mar. Ser. Tech. Rep.*, 862, 241-255
- IVANOVICI, A. M. et W. J. Wiebe, 1982. « For working definition of « stress »: a review and critique » dans G. W. Barrett et R. Rosenberg (eds.), « *Stress and Natural Ecosystems* », John Wiley & Sons, New York, 13-27
- JACOBSEN, D. et K. Sand-Jensen, 1994. « Growth and energetic of a tricopteran larva feeding on fresh water submerged and terrestrial plants », *Oecologia*, 97, 412-418

- JEFFS, A. G., R. C. Holland, S. H. Hooker et B. J. Hayden, 1999. « Overview and bibliography of research on the greenshell mussel, *Perna canalicus*, from the New Zealand », *J. Shellfish Res.*, 18, 347-360
- JOHN, D. M. et J. A. Pechnik, 1980. « Influence of water accommodated fraction of MO₂ fuel oil on energetic of *Cancer irroratus* larvae », *Mar. Biol.*, 55, 247-254
- JOKELA, J., 1996. « Within-season reproductive and somatic energy allocation in a freshwater clam, *Anodonta piscinalis* », *Oecologia*, 105, 167-174
- KAGLEY, A. N., R. G. Snider, P. K. Krishnakumar et E. Casillas, 2003. « Assessment of seasonal variability of cytochemical responses to contaminant exposure in the blue mussel *Mytilus edulis* (complex) », *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 43-52
- KENNEDY, V. S., 1976. « Desiccation, higher temperatures and upper intertidal limits of three species of sea mussels (Mollusca: Bivalvia) in New Zealand », *Mar. Biol.*, 35, 127-137
- KENNEDY, V. S. et J. A. Mihursky, 1972. « Effects of temperature on the respiratory metabolism of three Chesapeake Bay bivalves », *Chesapeake Science*, 13, 1-22
- KIMBROUGH, K. L., W. E. Johnson, G. G. Lauenstein, J. D. Christensen et D. A. Apeti, 2008. « An assessment of two decades on contaminant monitoring in the nation's coal zone », Silver Spring, MD., NOAA technical report, NOS NCCOS 74, 105 p.
- KLINKEN, J. et H. R. Skjoldal (1983). « Improvements of luciferin-luciferase methodology for determination of adenylate energy charge ratio of marine samples », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 13, 305-309
- KOGANEZAWA, A., 1974. « Present status of studies on the mass mortality of cultured oysters in Japan and its prevention », 3rd U.S. Japan Meet. Aquac. Spec. Publ. Fish. Agency, Jap. Gouv. & Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab. Nigata, Tokyo, pp. 29-34
- KOHN, K. W., 1986. « Assessment of DNA damage by filter elution assays » dans M. G. Simic, L. Grossman et A. C. Upton (eds.) « Mechanisms of DNA damage and repair. Implications for Carcinogenesis and Risk Assessment », Plenum Press, New-York, 101-118
- KOOIJMAN, S., 1986. « Energy budgets can explain body size relations », *J. Theor. Biol.*, 121, 269-282
- KOZLOV, M. V., E. L. Zvereva et P. Niemi, 2001. « Shoot fluctuating asymmetry: a new and objective stress index in Norway spruce (*Picea abies*) », *Can. J. For. Res.*, 31, 1289-1291

KRAMER, K. J. M., H. A. Jenner et D. De Zwart, 1989. « The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring », *Hydrobiol.* 188/189, 433-443

KRISHNAKUMAR, P. K., E. Casillas et U. Varanasi, 1994. « Effects of chemical contaminants on the health of *Mytilus edulis* from Puget Sound, Washington, USA, Cytochemical measures of lysosomal responses in the digestive cells using automatic image analysis », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 106, 249-261

KRISHNAMOORTHY, R. V., A. Venkataramiah, G. J. Lakshmi et P. Biesiot, 1978. « Changes in lipid and sterol levels as oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin) approach market size », *Proc. 9th Annu. Meet. World Maricult. Soc.*, 567-576

KROIHER, M., M. Walter et S. Berking, 1992. « Heat shock as inducer of metamorphosis in marine invertebrates », *Roux's Arch Dev. Biol.*, 201, 169-172

LACHANCE, A.-A., B. Myrand, R. Tremblay, V. Koutitonsky et E. Carrington, 2008. « Biotic and abiotic factors influencing attachment strength of blue mussels *Mytilus edulis* in suspended culture », *Aquat. Biol.*, 2, 119-129

LACOSTE, A., S. K. Malham, F. Gelebart, A. Cueff et S. A. Poulet, 2002. « Stress-induced immune changes in the oyster *Crassostrea gigas* », *Dev. Comp. Immuno.*, 26, 1-9

LAFRANCE, M., H. Guderley et G. Cliche, 2002. « Low temperature, but not air exposure slows the recuperation of juvenile scallops, *Placopecten magellanicus*, from exhausting escape responses », *J. Shellfish Res.* 21, 605-618

LANGSTON, W. J., M. J. Bebianno et M. Zhou, 1989. « A comparison of metal-binding proteins and cadmium metabolism in the marine molluscs *Littorina littorea* (Gastropoda), *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* (Bivalvia) », *Mar. Environ. Res.*, 28, 195-200

LARDIES, M. A., E. Clasing, J. M. Navarro et R. A. Stead, 2001. « Effects of environmental variables on burial depth of two infaunal bivalves inhabiting a tidal flat in southern Chile », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 81, 809-816

LARSON, K. G., B. S. Roberson et F. M. Hetrick, 1989. « Effect of environmental pollutants on the chemiluminescence of hemocytes from the American oyster *Crassostrea virginica* », *Dis. Aquat. Org.*, 6, 131-136

LE GAL, Y., L. Lagadic, S. Le Bras et Th. Caquet, 1997. « Charge énergétique en adénylates (CEA) et autres biomarqueurs associés au métabolisme énergétique », pp. 241-285, dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.

- LEBLANC, N., T. Landry, H. Stryhn, R. Tremblay, M. McNiven et J. Davidson, 2005. « The effect of high air and water temperature on juvenile *Mytilus edulis* in Prince Edward Island, Canada », *Aquaculture*, 243, 185-194
- LEE, C. Y., S. S. L. Lim et M. D. Owen, 1990. « The rate and strength of byssal reattachment by blue mussel (*Mytilus edulis* L.) », *Can. J. Zool.*, 68, 2005-2009
- LEGEAY, A., A. Achard-Joris, M. Beaudrimont, J.-C. Massabuau et J.-P. Bourdineaud, 2005. « Impact of cadmium contamination and oxygenation levels on biochemical response in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* », *Aquat. Toxicol.* 74: 242-253
- LEINIÖ, S. et K. K. Lehtonen, 2005. « Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea », *Comp. Biochem. Phys.* 140C, 408-421
- LE MOULLAC, G., I. Queau, P. Le Souchu, S. Pouvreau, J. Moal, J. R. Le Coz et J.-F. Samain, 2007. « Metabolic adjustments in the oyster *Crassostrea gigas* according to oxygen level and temperature », *Mar. Biol. Res.*, 3, 357-366
- LENS, L. et S. Van Dongen, 2000. « Fluctuating and directional asymmetry in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance, as revealed by mixture analysis », *Ecol. Lett.*, 3, 516-522
- LEROY, P., A. Nicolas, M. Wellmann, T. Oster et G. Siest, 1993. « Evaluation of o-phthalaldehyde as bifunctional fluorogenic post-column reagent for glutathione in LC », *Chromatographia*, 36, 130-134
- LI, Y., J. G. Qin, C. A. Abbot, X. Li et K. Benkendorff, 2007. « Synergistic impacts of heat shock and spawning on the physiology and immune health of *Crassostrea gigas*: An explanation for summer mortality in Pacific oyster », *Am. J. Physiol.Reg.* I, 293, 2353-2362
- LINDQUIST S. et E. A. Craig, 1988. « The heat-shock proteins », *Annu. Rev. Biochem.*, 22, 631-677
- LOBEL, P.B. et D. A. Wright, 1982. « Total body zinc concentration and allometric growth ratios in *Mytilus edulis* collected from different shore levels », *Mar. Biol.*, 66, 231-236
- LOJDA, Z., R. Gossreau et T. H. Schiebler, 1979. « Enzyme histochemistry : A laboratory Manual », Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 340 p.

LOWE, D. M., V. U. Fossato et M. H. Depledge, 1995a. « Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from Venice Lagoon: an in vitro study », Mar. Ecol. Prog. Ser., 129, 189-196

LOWE, D. M., C. Soverchia et M. N. Moore, 1995b. « Lysosomal membrane responses in the blood and digestive cells of mussels experimentally exposed to fluoranthene », Aquat. Toxicol., 33, 105-112

LOWRY, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr et R. J. Randall, 1951. « Protein measurement with the Folin-Phenol reagents », J. Biol. Chem., 193, 265-275

LUBET, P. et D. Le Feron de Longchamp, 1969. « Étude des variations annuelles des constituants lipidiques chez *Mytilus edulis* L. de la Baie de Seine (Calvados) », C. R. Séances Soc. Biol., 163, 1110-1113

LUBINSKY, I., 1980. « Marine bivalve molluscs of the canadian central and eastern Arctic: Faunal composition and zoogeography », Can. Bull. Fish. Aquat. Sc. Bull., 207, 11 p.

LUCAS, J. S. et P. C. Southgate, 2003. « Aquaculture farming aquatic animals and plants », Blackwell Publishing Company, 502 p.

MADUREIRA, M. J., A. M. Picado, A. M. Ferreira, E. Mendonca et Y. Le Gal, 1993. « PCB contamination in the oyster *Crassostrea angulata*: effects on lipids and adenylic energetic charge » dans W. Sloof et H. de-Kruijf (eds.), « Proceedings of the Second European Conference on Ecotoxicology, 1993 », Vol. Suppl. Pts. 1-2

MAGUIRE, J., 2003. « Quantifying stress in the scallop *Pecten maximus* in relation to aquaculture and dredging », Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.67-83

MAGUIRE, J. A., D. Cashmore et G. M. Burnell, 1999a. « The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten maximus* (L.) », Aquacult. Res., 30, 325-333

MAGUIRE, J. A., P. G. Fleury et G. M. Burnell, 1999b. « Some methods for quantifying quality in the scallop *Pecten maximus* L. », J. Shellfish Res., 18, 59-66

MAGUIRE, J. A., D. A. O'Connor et G. M. Burnell, 1999c. « An investigating into behavioural indicators of stress in juvenile scallops », Aquacult. Int., 7, 169-177

MAGUIRE, J. A., A. Coleman, S. Jenkins et G. M. Burnell, 2002a. « Effects of dredging on undersized scallops », Fish. Res., 56, 155-165

- MAGUIRE, J. A., S. Jenkins et G. M. Burnell, 2002b. « Effects of repeated dredging and speed of tow on undersized scallops », *Fish. Res.*, 58, 367-377
- MAGUIRE, J. A., M. O'Donoghue, S. Jenkins, A. Brand et G. M. Burnell. 2002c. « Temporal and spatial variability in dredging induces stress in the great scallop *Pecten maximus* (L.) », *J. Shellfish Res.*, 21, 81-86
- MAHÉO, R., 1970. « Étude de la pose et de l'activité de sécrétion du byssus de *Mytilus edulis* L. », *Cahier de biologie marine*, 11, 475-483
- MALLET, A. L. et C. E. Carver, 1993. « An assessment of strategies for growing mussels in suspended culture », *J. Shellfish Res.*, 10, 471-477
- MALLET, A. L. et C. E. A. Carver, 1995. « Comparative growth and survival patterns of *Mytilus trossulus* and *Mytilus edulis* in Atlantic Canada », *Can. J. Aquat. Sci.*, 52, 1873-1880
- MALLET, A. L. et B. Myrand, 1995. « The culture of blue mussels in Atlantic Canada » dans A. D. Boghen (ed.) « Cold water aquaculture in Atlantic Canada, 2nd Edition », CIRRD, Univ. Moncton, NB (Canada), 257-298
- MANDUZIO, H., T. Monsinjon, C. Galap, F. Leboulenger et B. Rocher, 2004. « Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu-Zn-superoxide dismutase and glutathione S-transferase », *Aquat. Toxicol.*, 70, 83-93
- MANN, R. et S. J. Glomb, 1978. « The effect of temperature on growth and gametogenesis in the Manila clam *Tapes japonica* », *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 6, 335-339
- MANZI, J. J. et M. Castagna, 1989. « Clam mariculture in North America, developments in aquaculture and fisheries science, vol. 19 », Elsevier, 461 p.
- MARKLUND, S. et G. Marklund, 1974. « Involvement of the superoxyde anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxyde dismutase », *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474
- MARTIN, J. et I. N. H. White, 1991. « Fluorimetric determination of oxidised and reduced glutathione in cells and tissues by high-performance liquid chromatography following derivatization with dansyl chloride », *J. Chromatogr.*, 568, 219-225
- MARTIN, M., 1985. « State mussel watch: toxics surveillance in California », *Mar. Pollut. Bull.*, 16, 140-146

MARTIN, M. et R. Severeid, 1984. « Mussel watch monitoring for the assessment of trace toxic contaminants in California marine waters » dans H. H. White (ed.), « Concepts in Marine Pollution Measurements », Maryland Sea Grant College, University of Maryland, 291-323

MARTOJA, M., 1995. « Mollusques », Institut Océanographique, 167 p.

MATTHIESSEN, G. C., 1960. « Observations on the ecology of the soft clam, *Mya arenaria* », Limnol. Oceanogr., 5, 291-300

MCCORD, J. M. et I. Fridovich, 1969. « Superoxide dismutase : an enzymic function for erythrocyte », J. Biol. Chem., 244, 6049-6055

McDONNALD, J. H., R. Seed et R. K. Koehn, 1991. « Allozymes and morphometric characters of three species of *Mytilus* in the northern and southern hemispheres », Mar. Biol., 111, 323-333

McDOUGAL, K. D., 1943. « Sessile marine invertebrates of Beaufort, North Carolina », Ecological Monographs, 13, 321-374

McFARLANE, R. B., 1981. « Alterations of adenine nucleotide metabolism in the Gulf killifish (*Fundulus grandis*) induced by low pH water », Comp. Biochem. Physiol., 68B, 193-202

MENZEL, W., 2000. « Estuarine and marine bivalve mollusk culture », CRC Press, 362 p.

MILLER, S. G., R. F. Leclerc et G. W. Erdos, 1990. « Identification and characterization of a testis-specific isoform of a chaperonin in a moth, *Heliothis virescens* », J. Mol. Biol., 214, 407-422

MINCHIN, D., H. Skjaeggstad, G. A. Haugum et O. Strand, 2000. « Righting and rearing ability of wild and native cultivated scallops », Aquacult. Res., 31, 473-474

MIYAZAKI, I., 1938. « On fouling organisms in the oyster farm », Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., 6, 223-232

MOAL, J., J. R. Le Coz, J. F. Samain et J. Y. Daniel, 1989. « Responses and adaptations of adenylate energy charge and digestive enzyme activities to tidal emersion of *Crassostrea gigas* population in Marennes-Oleron Bay », Sci. Mar. Barc., 53, 699-704

MOAL, J., J. R. Le Coz, J.-F. Samain et J. Y. Daniel, 1991. « Adenylate energy charge: a possible trophic index for management of oyster intensive aquaculture », Comp. Biochem. Phys., 100C, 201-205

- MOESER, G. M. et E. Carrington, 2006. « Seasonal variation in mussel byssal thread mechanics », *J. Exp. Biol.*, 209, 1996-2003
- MOESER, G. M., H. Leba et E. Carrington, 2006. « Seasonal influence of wave action on thread production in *Mytilus edulis* », *J. Exp. Biol.*, 209, 881-890
- MOLLER, A. P., 1997. « La nature préfère la symétrie », *La Recherche*, 304, 50-55
- MOORE, M. N., 1985. « Cellular responses to pollutants », *Mar. Poll. Bull.*, 16, 134-139
- MOORE, M. N., 1988. « Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environment and experimental exposure to xenobiotics », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 46, 81-89
- MORAGA, D., A.-L. la Meistertzheim, S. Tanguy-Royer, I. Boutet, A. Tanguy et A. Donval, 2005. « Stress response in Cu²⁺ and Cd²⁺ exposed oysters (*Crassostrea gigas*): An immunohistochemical approach », *Comp. Biochem. Phys.* 141C: 151 – 156
- MOREAU, V., R. Tremblay et E. Bourget, 2005. « Distribution of *Mytilus edulis* and *M. trossulus* on the Gaspé coast in relation to spatial scale », *J. Shellfish Res.*, 24, 545-551
- MORENO, J. E. A., V. S. Moreno et R. R. Brenner, 1976. « Lipid metabolism of the yellow clam, *Mesodesma mactroides* : Composition of the lipids », *Lipids*, 11, 334-340
- MORIMOTO, R. I., 1991. « Heat shock: the role of transient inducible responses in cell damage, transformation and differentiation », *Cancer Cells*, 3, 295-301
- MPO (Ministère des Pêches et des Océans Canada) (Page consultée le 2 avril 2008) [En ligne]. Adresse URL : http://www.dfo-mpo.gc.ca/communic/statistics/main_f.htm
- MYRAND, B. et J. Gaudreault, 1995. « Summer mortality of blue mussels (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758) in the Magdalen Islands (southern Gulf of St. Lawrence, Canada) », *J. Shellfish Res.*, 14, 395-404
- MYRAND, B., H. Guderley et J. H. Himmelman, 2000. « Reproduction and summer mortality of blue mussels *Mytilus edulis* in the Magdalen Islands, southern Gulf of St. Lawrence », *Mer. Ecol. Prog. Ser.*, 197, 193-207
- MYRAND, B., R. Tremblay et J.-M. Sévigny, 2002. « Selection against blue mussels (*Mytilus edulis* L.) homozygotes under various stressful conditions », *J. Hered.*, 93, 238-248

- NACCI, D., S. Nelson, W. Nerson et E. Jackim, 1992. « Application of the DNA alkaline unwinding assay to detect DNA strand breaks in marine bivalves », *Mar. Environ. Res.*, 33, 83-100
- NADEAU, M., X. Janssoone et H. Guderley, 2008. « Adaptation d'un outil de mesure de la vitalité du pédoncle par musclométrie à des fins d'activités pectinicoles », MAPAQ, DIT, Rapport de R-D no 162, 12 p.
- NELSON, W. G., 1990. « Use of the blue mussel , *Mytilus edulis*, in water quality toxicity testing and *in situ* marine biological monitoring » dans W. G. Landis et W. H. Van Der Schalie (eds.), « Aquatic Toxicology and Risk Assessment, Vol. 13 », ASTM, Philadelphia, 167-175
- NEUSCHWANDER-TERRI, B. A. et F. J. Roll, 1989. « Glutathione measurement by high-performance liquid chromatography separation and fluorimetric detection of the glutathione-*orthophthalaldehyde* adduct », *Anal. Biochem.*, 179, 236-241
- NEWELL, C. R., 1991. « The soft-shell clam *Mya arenaria* (Linnaeus) in North America », dans « Estuarine and marine bivalve mollusk culture », Boca Raton, Floride, CRC Press
- NEWELL, C. R., H. Hidu, B. J. McAlice, G. Podniesinski, F. Short et L. Kindblom, 1991. « Recruitment and commercial seed procurement of the blue mussel in Maine », *J. World Aquacult. Soc.*, 22, 134-152
- NEWELL, C. R., D. J. Wildish et B. A. MacDonald, 2001. « The effects of velocity and seston concentration on the exhalant siphon area, valve gape and filtration rate of the mussel *Mytilus edulis* », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 262, 91-111
- NEWELL, R. I. E., 1989. « Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (North and Mid-Atlantic) – blue mussel », *U. S. Fish. Wildl. Serv. Biol. Rep.*, 82 (11.102), U. S. Army Corps of Engineers, TR El-82-4. 25 p.
- NISHIDA, A., K. Ohkawa, I. Ueda et H. Yamamoto, 2003. « Green mussel *Perna viridis* L.: attachment behaviour and preparation of antifouling surfaces », *Biom. Eng.* 20, 381–387.
- NOËL, D., E. Bachere et E. Mialhe, 1993. « Phagocytosis associated chemiluminescence of hemocytes in *Mytilus edulis* (Bivalvia) », *Dev. Comp. Immunol.*, 17, 483-493
- NOVER, L., 1991. « The heat shock response », CRC Press, Boca Raton
- OKUMUS, I. et H. P. Stirling, 1998. « Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs », *Aquaculture*, 159, 249-261

- OLIVER, L. M. , E. B. Sutton et W. S. Fisher, 1995. « Effects of tributyltin exposure on oyster (*Crassostrea virginica*) defense functions », J. Shellfish Res., 14, 274
- OUBELLA, R., P. Maes, C. Paillard et M. Auffret, 1993. « Experimentally induced variation in hemocyte density for *Ruditapes philippinarum* and *R. decussates* (Mollusca, Bivalvia) », Dis. Aquat. Org., 15, 193-197
- PAGLIA, D. E. et W. N. Valentine, 1967. « Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase », J. Lab. Clin. Med., 70, 158-169
- PAOLETTI, F., D. Aldinucci, A. Mocali et A. Caparrini, 1986. « A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxyde dismutase activity in tissue extracts », Anal. Biochem., 154, 536-541
- PARISEAU, J., 2003. « Influence de variables physiques et biologiques sur le temps d'enfouissement sur le temps d'enfouissement chez la mye commune (*Mya arenaria*) », Mémoire présenté à l'Université du Québec à Rimouski, 50 p.
- PARISEAU, J., B. Myrand, G. Desrosiers, L. Chevarie et M. Giguère, 2007. « Influences of physical and biological variables on softshell clam (*Mya arenaria* LINNEAUS 1758) burial », J. of Shell. Res., 26, 391-400
- PARRISH, C.C., 1987. « Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan Flame Ionization detection », Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44, 722-731
- PATRICK, S., N. Faury et P. Gouilletquer, 2006. « Seasonal changes in carbohydrate metabolism and its relationship with summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Marennes-Ole'ron bay (France) », Aquac., 252, 328-338
- PECHENIK, J. A., 2005. « Biology of the invertebrates », McGraw-Hill Higher Education, 590 p.
- PELHAM, H. R. B., 1990. « Functions of the hsp70 protein family: an overview », dans Morimoto, R.I., A. Tissieres et C. Georgopoulos (eds), « Stress proteins in biology and medicine », Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 287-299
- PELLERIN-MASSICOTTE, J., 1997. « Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) », J. Rech. Océanographique, 22, 91-98

- PENNEY, R. W., M. J. Hart et N. D. Templeman, 2006. « Genotype-dependent survival, growth, and production in cultured blue mussels, *Mytilus* spp.: Results of a reciprocal seed transfer experiment », *J. Shellfish Res.*, 25, 515-525.
- PENNEY, R.W., M. J. Hart et N. D. Templeman, 2007. « Shell strength and appearance in cultured blue mussels *Mytilus edulis*, *M. trossulus*, and *M. edulis* x *M. trossulus* hybrids », *North. Amer. J. Aqua.*, 69, 281-295
- PÉRÈS, J. M., 1976. « Précis d'océanographie biologique », Presse universitaire de France, 239 p.
- PERNET, F., R. Tremblay et E. Bourget, 2003. « Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition, Part II: larval rearing, competency and settlement », *J. Shellfish Res.*, 22, 377-388
- PERNET, F., R. Tremblay, C. Gionet et T. Landry, 2006. « Lipid remodeling in wild and selectively bred hard clams at low temperatures in relation to genetic and physiological parameters », *J. Exp. Biol.*, 209, 4663-4675
- PFITZENMEYER, H. T. et K. G. Drobeck, 1967. « Some factors influencing reburrowing activity of soft-shell clam, *Mya arenaria* », *Chesapeake Science*, 8, 193-199
- PIERSMA, T., Y. Verkuil et I. Tulp, 1994. « Resources for long-distance migration of knots *Calidris Canutus islandica* and *C. canutus*: how broad is the temporal exploitation of benthic prey in the western and eastern Wadden Sea? », *Oikos*, 71, 393-407
- PIPE, R. K., 1990. « Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel, *Mytilus edulis* », *Histochem. J.*, 22, 595-603
- PIPE, R. K., 1992. « Generation of reactive oxygen metabolites by the haemocytes of the mussel, *Mytilus edulis* », *Dev. Comp. Immunol.*, 16, 111-122
- POIRIER, L. et B. Myrand, 1982. « Élevage de la moule bleue, *Mytilus edulis*, dans les lagunes des Îles-de-la-Madeleine (Quebec) », *Trav. Pech. Que.*, 49, 1-64
- POLAK, M., 2003. « Developmental instability: causes and consequences », Oxford University Press, New York.
- POTTS, M. S., 1993. « Effects of hematopoietic neplasia on physiological processes in the soft-shell clam *Mya arenaria* (Linne) », Ph. D. thesis, University of New Hampshire, 150 p.
- POUVREAU, S., Y. Bourles, S. Lefebvre, A. Gangnery et M. Alunno-Bruscia, 2006. « Application of a dynamic energy budget model to the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, reared under various environmental conditions », *J. Sea Res.*, 56, 156-167

- PRICE, H., 1980. « Seasonal variation in the strength of byssal attachment of the common mussel *Mytilus edulis* », J. Mar. Biol. Ass. U.K., 60, 1035-1037
- PRICE, H. A., 1982. « An analysis of factors determining seasonal variation in the byssal attachment strength of *Mytilus edulis* », J. Mar. Biol. Ass. U.K., 62, 147-155
- PRICE, H. A., 1983. « Structure and formation of the byssus complex in *Mytilus edulis* (Mollusca, Bivalvia) », J. Moll. Stu., 49, 9-17
- QIAN, Y. et R. W. Davies, 1994. « Differences in bioenergetic and life-history traits between two generations of *Nepheleopsis obscura* due to the prehistory of their parents », Funct. Ecol., 8, 102-109
- RAFFIN, J. - P. et M. - T. Thébault, 1996. « Modelisation of coordinated changes of adenylate energy charge and ATP/ADP ratio : application to energy metabolism in invertebrate and vertebrate skeletal muscle », C. R. Acad. Sci., Paris, 319, 9-15
- RAINER, S. F., A. M. Ivanovici et V. A. Wadley, 1979. « Effect of reduced salinity on adenylate energy charge in three estuarine molluscs », Mar. Biol., 54, 91-99
- RANDERATH, K., M. V. Reddy et R. C. Gupta, 1981. « ³²P-postlabelling tests for DNA damage », Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 78, 6126-6129
- RAY, M. et A. W. Stoner, 1994. « Experimental analysis of growth and survivorship in a marine gastropod aggregation: balancing growth with safety in numbers », Mar. Ecol. Progr. Ser., 105, 47-59
- Renwranz, L., 1990. « Internal defense system of *Mytilus edulis* », dans G. B. Stephano (Ed.) « Neurobiology of *Mytilus edulis* », Manchester University Press, Angleterre, p. 256-275
- RETHER, B., J.-F. Masfaraud, G. Keith, A. Devaux et G. Monod, 1997. « Biomarqueurs de génotoxicité chez les végétaux et les animaux » pp.185-208 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.
- RIBERA, D., J.-F. Narbone, M. Daubeze et X. Michel, 1989. « Characterisation, tissue distribution and sexual differences of some parameters related to lipid peroxidation in mussels », Mar. Environ. Res., 28, 279-283
- RICE-EVANS, C. A., A. T. Diplock et M. C. R. Symons, 1991. « Techniques in free radical research » dans R. H. Burton et P. H. Van Knippenberg (eds), « Laboratory

Techniques in Biochemistry and Molecular Biology », Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam

RICHARD, J. et B. Myrand, 1984. « Biologie de la moules bleue (*Mytilus edulis*) et techniques d'élevage au Québec », Ministère de l'Agriculture, Pêcheries, Alimentation du Québec, Cahier spécial d'information No 9, 29 p.

RIISGÅRD, H. U., 2001. « On measurement of filtration rates in bivalves—the stony road to reliable data: review and interpretation », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 211, 275–291

RIISGÅRD, H. U., 2004. « Intercalibration of methods for measurement of bivalve filtration rates - a turning point », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 276, 307-308

RIISGÅRD, H. U., C. Kittner et D. F. Seerup, 2003. « Regulation of opening state and filtration rate in filter-feeding bivalves (*Cardium edule*, *Mytilus edulis*, *Mya arenaria*) in response to low algal concentration », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 284, 105– 127

RIISGARD, H. U., J. Lassen et C. Kittner, 2006. « Valve-gape response times in mussels (*Mytilus edulis*) - Effects of laboratory preceding-feeding conditions and in situ tidally induced variation in phytoplankton biomass », *J. Shellfish Res.*, 25, 901-911

ROMBOUGH, P. J., 1994. « Energy partitioning during fish development: additive or compensatory allocation of energy to support growth? », *Func. Ecol.*, 8, 178-186

ROSEBERRY, L., B. Vincent and C. Lemaire, 1991. « Croissance et reproduction de *Mya arenaria* dans la zone intertidale de l'estuaire du Saint-Laurent », *Can. J. Zool.*, 69, 724-732

ROSS, G. M., T. J. McMillan, P. Wilcox et A. R. Collins, 1995. « The single cell microgel electrophoresis assay (comet assay): technical aspects and applications », *Mutation Res.*, 336, 57-60

ROSS, N. W., E. E. Egbosimba, N. T. Brun, V. M. Bricelj, T. H. MacRae, J. M. Harding, C. Couturier et G. J. Parsons, 2003. « Development of biochemical indicators of stress responses for bivalves : recent studies on heat shock proteins and proteases », *Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.28-32*

RUFFIN, P., S. Demuynek, J. L. Hilbert et A. Dhainaut, 1994. « Stress protein in the polychaete annelid *Nereis diversicolor* induced by heat shock or cadmium exposure », *Biochimie*, 76, 423-427

RUPPERT, E. E. et R. D. Barnes, 1991. « *Invertebrate Zoology*, 6th Edition », Fort Worth, Tex., Toronto, Saunders College, 1056 p.

- RYDBERG, B., 1975. « The rate of strand separation in alkali of DNA of irradiated mammalian cells », *Radiat. Res.*, 61, 274-285
- SALANKI, J. et L. Varanka, 1976. « Effects of copper and lead compounds on the activity of the fresh-water mussel », *Annal. Biol. Tihany*, 43, 21-27
- SAMAIN, J.-F. et H. McCombie, 2007. « Mortalités estivales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* - Défi Morest », Ifremer, Morest, Versailles Cedex - France. 332 p.
- SAMAIN, J.-F., L. Dégremont, P. Soletchnik, J. Haure, E. Bédier, M. Ropert, J. Moal, A. Huvet, H. Bacca, H. Van Wormhoudt, M. Delaporte, K. Costil, S. Pouvreau, S. Lambert, V. Boulo, P. Soudant, J. L. Nicolas, F. Le Roux, T. Renault, B. Gagnaire, F. Gereth, I. Boutet, T. Burgeot et P. Boudry, 2007. « Genetically based resistance to summer mortality in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and its relationship with physiological, immunological characteristics and infection processes », *Aquac.*, 268, 227-243
- SAMI, S, M. Faisal et R. J. Huggett, 1992. « Alterations in cytometric characteristics of hemocytes from the American oyster *Crassostrea virginica* exposed to a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contaminated environment », *Mar. Biol.*, 113, 247-252
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, W. G. Nelson, D. K. Phelps et W. Welch, 1991. « Relationship between accumulation of a 60 kDa stress protein and scope-for-growth in *Mytilus edulis* exposed to a range of copper concentrations », *Mar. Environ. Res.*, 31, 81-97
- SANDERS, B. M. et L. S. Martin, 1993. « Stress protein as biomarkers of contaminant exposure in archives environmental samples », *Sci. Total Environ.*, 139/140, 459-470
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, S. R. Howe, W. G. Nelson, E. S. Hegre et D. K. Phelps, 1994a. « Tissue-specific differences in accumulations of stress proteins in *Mytilus edulis* exposed to a range of copper concentrations », *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 125, 206-213
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, P. A. Nakagawa, D. A. Hunter, S. Miller et S. J. Ullrich, 1994b. « Specific cross-reactivity of antibodies raised against two major stress proteins, stress 70 and chaperonin 60, in diverse species », *Environ. Toxicol. Chem.*, 13, 1241-1249
- SASTRY, A. N. et N. J. Blake, 1971. « Regulation og gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck », *Biological Bulletin. Marine Biological Laboratory*, 140, 466-471
- SAUVÉ, S., P. Brousseau, J. Pellerin, Y. Morin, L. Sénécal, P. Goudreau et M. Fournier, 2002. « Phagocytic activity of marine and freshwater bivalves : in vitro exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn) », *Aquatic Toxicology*, 58, 189-200

- SCHOLNICK, D. A., 1995. « Sensitivity of metabolic rate, growth and fecundity of tadpole shrimp *Triops longicaudatus* to environment variation », *Biol. Bull.*, 189, 22-28
- SEED, R. et T. H. Suchanek, 1992. « Population and community ecology of *Mytilus* » dans E. Gosling (ed.) « The mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and culture », *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, No 25, Elsevier, p. 87-169
- SEED, R. et C. A. Richardson, 1999. « Evolutionary traits in *Perna viridis* (Linnaeus) and *Septifer virgatus* (Wiegmann) (Bivalvia: Mytilidae) », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 239, 273–287
- SELIN, N. I. et E. E. Vekhova, 2004. « Effects of environmental factors on byssal threads formation in some members of the family Mytilidae from the Sea of Japan », *Russ. J. Mar. Biol.*, 30, 306-313
- SELYE, H., 1976. « Stress in health and disease », Butterworth Publishers, Boston
- SHAMSELDIN, A. A., J. S. Clegg, C. S. Friedman, G. N. Cherr et M. C. Pillai, 1997. « Induced thermotolerance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* », *J. Shellfish Res.*, 16, 487-491
- SHICK, J. M. et J. Widdows, 1981. « Direct and indirect calorimetric measurements of metabolic rate in bivalve molluscs during aerial exposure », *Am. Zool.* 21, 983
- SHICK, J. M., E. Gnaiser, J. Widdows, B. L. Bayne et A. de Zwaan, 1986. « Activity and metabolism in the mussel *Mytilus edulis* L. during intertidal hypoxia and aerobic recovery », *Physiol. Zool.*, 59, 627-642
- SHUGAR, D., 1952. « Measurement of lysozyme activity and the ultraviolet inactivation of lysozyme », *Biochim. Biophys. Acta*, 8, 302-308
- SHUGART, L. R., 1988. « An alkaline unwinding assay for the detection of DNA damage in aquatic organisms », *Mar. Environ. Res.*, 24-321-325
- SHYKOFF, J. A. et A. P. Moller, 1999. « Fitness and asymmetry under different environmental conditions in the barn swallows », *Oikos*, 86, 152-158
- SIES, H., 1991. « Oxidative stress : introduction », dans Sies, H. (eds) « Oxidative stress, oxydants and antioxydants », Academic Press, San Diego, I-XV
- SINGH, N. P., McCoy, R. R. Tice et E. L. Schneider, 1988. « A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells », *Exp. Cell. Res.*, 175, 184-191

SLABYJ, B. M., 1980. « Storage and processing of mussels » dans R. A. Lutz (ed.) « Mussel culture and harvest : A North American perspective », Elsevier Scientific Publishing, Amsterdam, p. 247-262

SLUYTS, H., F. Van Hoof, A. Cornet et J. Paulussen, 1996. « A dynamic new alarm system for use in biological early warning systems », Environ. Toxicol. Chem., 15, 1317-1323

SOBRAL, P. et J. Widdows, 1997. « Influence of hypoxia and anoxia on the physiological responses of the clam *Ruditapes decussatus* from southern Portugal », Mar. Biol., 127, 455-461

SODIM (Société de développement de l'industrie maricole), 2003. « Plan d'action 2002-2007 en recherche et développement en mariculture », 34 p.

SOLÉ, M., C. Porte et J. Albaiges, 1995. « Seasonal variation in the mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis* », Environ. Toxicol. Chem., 14, 157-164

SOOT-RYEN, T., 1969. « Family Mytilidae Rafinesque 1815 » dans R. C. Moore (ed.) « Treatise on invertebrate palaeontology, part N », Mollusca 6, Geological Society of America/University of Kansas Press, p. 271-280

SOTO, M., M. Kortabitarte et I. Marigomez, 1995. « Bioavailable heavy metals in estuarine waters as assessed by metal/shell-weight indices in sentinel mussels *Mytilus galloprovincialis* », Mar. Ecol. Prog. Ser., 125, 127-136

SOUDANT, P., C. Paillard, G. Choquet, C. Lambert, H. I. Reid, A. Marhic, L. Donaghy et T. H. Birkbeck, 2004. « Impact of season and rearing site on the physiological and immunological parameters of the Manila clam *Venerupis* (= *Tapes*, = *Ruditapes philippinarum*) », Aquaculture, 229, 401-418

STAIKOU, A. et M. Lazaridou-Dimitriadou, 1989. « Feeding experiments on and energy flux in a natural population of the edible snail *Helix lucorum* L. (Gastropoda: Pulmonata: Stylommatophora in Greece », Malacologia, 31, 217-227

Statistiques Canada (Page consultée le 20 mars 2008) [En ligne]. Adresse URL : http://www.dfo-mpo.gc.ca/communic/statistics/aqua/index_f.htm)

STEINERT, S. A. et G. V. Pickwell, 1988. « Expression of heat shock proteins and metalloprotein in mussels exposed to heat stress and metal ion challenge », International Symposium on Response of Marine Organisms to Pollutants, Mar., Env., Res, 24, 211-214

- STEINERT, S. A. et G. V. Pickwell, 1993. « Induction of SP 70 proteins in mussels by ingestion of tributyltin », *Mar. Environ. Res.*, 35, 89-93
- STEPHENSON, R. R. et D. Taylor, 1975. « The influence of EDTA on the mortality and burrowing activity of the clam (*Venerupis decussata*) exposed to sub lethal concentrations of copper », *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 14, 304-308
- STICKLE, W. B. et T. D. Sabourin, 1979. « Effects of salinity on the respiration and heart rate of the common mussel, *Mytilus edulis*, and the black chiton, *Katherina tunicate* (Wood) », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 41, 252-268
- STUBBINGS, H. G., 1954. « The biology of the common mussel in relation to fouling problems », *Research*, 7, 222-229
- SUKHOTIN, A. A., D. L. Lajus et P. A. Lesin, 2003. « Influence of age and size on pumping activity and stress resistance in the marine bivalve *Mytilus edulis* L. », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 284, 129-144
- SURESH, K. et A. Mohandas, 1990. « Effect of sublethal concentrations of copper on hemocyte number in bivalves », *J. Invertebr. Pathol.*, 55, 325-331
- TALLQVIST, M., 2001. « Burrowing behaviour of the Baltic clam *Macoma balthica*: effects of sediment type, hypoxia and predator presence », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 212, 183-191
- THOMPSON, R. J., N. A. Ratcliffe et B. L. Bayne, 1974. « Effects of starvation on structure and function in the digestive gland of the mussel (*Mytilus edulis* L.) », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 54, 699-712
- TIRARD, C. T., R. M. Grossfeld, J. F. Levine et S. Kennedy-Stoskopf, 1997. « Effect of osmotic shock on protein synthesis of oyster hemocytes in vitro », *Comp. Biochem. Phys.*, 116A, 43-49
- TISCAR, P. G., F. Marsilio, M. tempesta et A. Gatti, 1996. « Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) heat shock proteins 70 (HSPs70) production in hémocytes exposed to *Escherichia coli* », *Bollettino Societa di Patologia Ittica*, 8, 31-39
- TORREILLES, J., M.-C. Guérin et P. Roch, 1996, « Espèces oxygénées réactives et systèmes de défense des bivalves marins », *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 319, 209-218
- TREMBLAY, R. et J. Pellerin-Massicotte, 1997. « Effect of the tidal cycle on lysosomal membrane stability in the digestive gland of *Mya arenaria* and *Mytilus edulis* L. », *Comp. Biochem. Physiol.*, 117A, 99-104

TREMBLAY, R., B. Myrand et J.-M. Sévigny, 1998a. « Genetic characterization of wild and suspension-cultured blue mussels (*Mytilus edulis* Linneaus, 1758) in the Magdalen Islands (southern Gulf of St. Lawrence, Canada) », J. Shellfish Res., 17, 1191-1202

TREMBLAY, R., B. Myrand et H. Guderley, 1998b. « Temporal variation of lysosomal capacities in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.) to summer mortality », Mar. Biol., 132, 641-649

TREMBLAY, R., B. Myrand, J.-M. Sévigny, P. Blier et H. Guderley, 1998c. « Bioenergetic and genetic parameters in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.) to summer mortality », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 221, 27-58

TREMBLAY, R., B. Myrand et H. Guderley, 1998d. « Thermal sensitivity of organismal and mitochondrial oxygen consumption in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.), to summer mortality », J. Shellfish Res., 17, 141-152

TRUEMAN, E. R., 1968. « The burrowing activities of bivalves » dans V. Fretter (ed.) « Studies in the structure, physiology and ecology of molluscs », Zool. Soc. Lond., Aca. Press, p. 167-186

TYURIN, A.N. 1991. « Behavioural reactions of the scallop, *Mizuhopecten yessoensis*, and the mussel, *Crenomytilus grayanus*, to reduced salinity and oxygen and exposure to synthetic detergents », J. Hydro Biol., 24, 13-19

Université d'Ottawa (Page consultée le 2 avril 2008) [En ligne]. Adresse URL : <http://simulium.bio.uottawa.ca/bio2525/labo/Protocoles/mollusca.htm>

Université Libre de Bruxelles (ULB) (Page consultée le 2 avril 2008) [En ligne]. Adresse URL : <http://www.ulb.ac.be/sciences/dste/sediment/Paleonto/fossiles/mollusques.html>

VAN Noorden, D. J. F. et R. G. Butcher, 1986. « Enzyme reaction rate studies in electromotor neurons of the weakly electric fish *Apternotus leptorhynchus* », Histochem. J., 21, 609-671

VAN Winkle Jr., W., 1970. « Effect of environmental factors on byssal thread formation », Mar. Biol., 7, 143-148

VASSALO, M. T., 1973. « Lipid storage and transfer in the scallop *Chlamys hericia* Gould », Comp. Biochem. Phys., 42A, 473-485

VEDEL, A. et H. U. Riisgard, 1993. « Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics », Mar. Ecol. Progr. Ser., 100, 145-152

VELDHUIZEN-TSOERKAN, M. B., D. A. Holwerda et D. I. Zandee, 1991. « Anoxic survival time and metabolic parameters as stress indices in sea mussels exposed to cadmium or polychlorinated biphenyls », *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, 259-265

VIARENGO, A., M. Pertica, L. Canesi, R. Accomando, G. Mancinelli et M. Orunesu, 1989. « Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age group exposed to anaerobic and aerobic conditions », *Mar. Environ. Res.*, 28, 291-295

VIARENGO, A., L. Canesi, M. Pertica, D. R. Livingstone et M. Orunesu, 1991a. « Age-related lipid peroxidation in the digestive gland of mussels: the role of the antioxidant defense systems », *Experientia*, 47, 454-457

VIARENGO, A., L. Canesi, M. Pertica et D. R. Livingstone, 1991b. « Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels », *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 187-190

VLÈS, R., 1909. « Monographie sommaire de la mye (*Mya arenaria* Linné) », *Mémoire de la Société zoologique de France*, 22, 90-142

VOLETY, A. K., L. M. Oliver, F. J. Genthner et W. S. Fisher, 1999. « A rapid tetrazolium dye reduction assay to assess the bactericidal activity of oyster (*Crassostrea virginica*) hemocytes against *Vibrio parahaemolyticus* », *Aquaculture*, 172, 1-2

WAITE, J. H., 1983. « Adhesion in byssally attached bivalves », *Biological Review*, 58, 209-231

WARWICK, J., 1984. « A code of practice for mussel processing », New Zealand Fishing Industry Board, Wellington, New Zealand, 35 p.

WENDEL, A., 1981. « Glutathione peroxydase » dans W. B. Jakoby (ed.), « *Methods in Enzymology*, Vol. 77 », Academic Press, San Diego, 325-332

WIDDOWS, J., 1978. « Physiological indices of stress in *M. edulis* », *J. Mar. Biol. Ass., U. K.*, 58, 125-142

WIDDOWS, J., 1988. « Calorimetric and energetic studies of marine bivalves » dans W. Weiser et E. Gnaiser (eds) « *Energy transformations in cells and organisms* », Georg Theme, Verlag, Stuttgart, pp. 145-154

WIDDOWS, J. et B. L. Bayne, 1971. « Temperature acclimation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget », *J. Mar. Biol. Ass., U. K.*, 51, 827-843

WIDDOWS, J. et J. M. Shick, 1985. « Physiological responses of *Mytilus edulis* and *Cardium edule* to aerial exposure », Mar. Biol., 85, 217-232

WIDDOWS, J. et D. Johnson, 1988. « Physiological energetics of *Mytilus edulis* : Scope for growth », Mar. Ecol. Prog. Ser., 46, 113-121

WIDDOWS, J. et P. Donkin, 1991. « Role of physiological energetics in ecotoxicology », Comp. Biochem. Physiol., 100C, 69-75

WIDDOWS, J. et D. S. Page, 1992. « Effects of tributyltin and dibutyltin on the physiological energetics of *Mytilus edulis* », Mar. Environ. Res., 35, 233-249
Bligh, E. G. et W. J. Dyer, 1959. « A rapid method of total lipid extraction and purification », Can. J. Biochem., 37, 911-915

WIDDOWS, J., B. L. Bayne, D. R. Livingstone, R. I. E. Newell and P. Donkin, 1979. « Physiological and biochemical responses of bivalve molluscs to exposure to air », Comp. Biochem. Physiol., 62A, 301-308

WIDDOWS, J., D. K. Phelps et W. Galloway, 1981. « Measurements of physiological condition of mussels transplanted along a pollution gradient in Narragansett Bay », Mar. Environ. Res., 4, 181-194

WIDDOWS, J., T. Bakke, B. L. Bayne, P. Donkin, D. R. Livingstone, D. M. Lowe, M. N. Moore, S. V. Evans et S. L. Moore, 1982. « Responses of *Mytilus edulis* on exposure to the water accommodated fraction of North Sea oil », Mar. Biol., 67, 15-31

WIDDOWS, J., P. Donkin et S. V. Evans, 1985. « Recovery of *Mytilus edulis* L from chronic oil exposure », Mar. Environ. Res., 17, 250-253

WIDDOWS, J., P. Donkin, P. N. Salked et S. V. Evans, 1987. « Measurement of scope for growth and tissue hydrocarbon concentrations of mussels (*Mytilus edulis*) at sites in the vicinity of the Sullom Voe oil terminal: a case study », dans W. J. Van Den Brink et J. Kuiper (eds.) « Fate and Effects of Oil in Marine Ecosystems », Martinus Nijhof, Dordrecht, 269-277

WIDDOWS, J., K. A. Burns, N. R. Menon, D. S. Page et S. Soria, 1990. « Measurement of physiological energetics (scope for growth) and chemical contaminants in mussels (*Arca zebra*) transplanted along a contaminant gradient in Bermuda », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 138, 99-117

WIJSMAN, T. C. M., 1976a. « ATP content and mortality in *Mytilus edulis* from different habitats in relation to anaerobiosis », Neth. J. of Sea Res., 10, 140-148

- WIJSMAN, T. C. M., 1976b. « Adenosine phosphates and energy charge in different tissues of *Mytilus edulis* L. under aerobic and anaerobic conditions », J. Comp. Physiol. Ser. B, 107, 129-140
- WITMAN, J. D. et T. H. Suchanek, 1984. « Mussels In flow: dragand dislodgement by epizoans », Mar. Ecol. Prog. Ser., 16: 259-268
- YOUNG, G. A., 1985. « Byssus-thread formation by the mussel *Mytilus edulis*: effect of environmental factors », Marine Ecology Progress Series, 24, 261-271
- ZAKLAN, S. D. et R. Ydenberg, 1997. « The body size burial depth relationship in the infaunal clam *Mya arenaria* », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 214, 1-18
- ZANDEE, D. I., D. A. Holwerda, J. H. Kluytmans et A. De Zwaan, 1986. « Metabolic adaptations to environmental anoxia in the intertidal bivalve mollusc *Mytilus edulis* L. », Neth. J. Zool., 26, 322-343
- ZANGE, J., O. Portner et M. K. Griehaber, 1989. « The anaerobic energy metabolism in the anterior byssus retractor muscle of *Mytilus edulis* during contraction and cath », Comp. Biochem. Phys., 159B, 349-359
- ZAROOGIAN, G. E., J. H. Gentile, J. F. Heltshe, M. Johnson et A. M. Ivanovici, 1982. « Applications of adenine nucleotid measurements for the evaluation of stress in *Mytilus edulis* and *Crassostrea virginica* », Comp. Biochem. Phys., 71B, 643-649
- ZOUROS, E., K. R. Freeman, A. O. Ball et G. Pogson, 1992. « Direct evidence for extensive paternal mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus* », Nature, 359, 412-414
- ZWARTS, L. et J. H. Wanink, 1993. « How the food supply harvestable by waders in the Wadden Sea depends on the variation in energy density, body weight, biomass, burying depth and behaviour of tidal-flat invertebrates », Neth. J. Sea Res., 31, 441-476
- ZWARTS, L., A.-M. Blomert, P. Spaak et B. De Vries, 1994. « Feeding radius, burying depth and siphon size of *Macoma balthica* and *Scrobicularia plana* », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 183, 193-212

