

**THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE**

Spécialité : OCEANOLOGIE BIOLOGIQUE

Présentée par
Hélène LARVOR
pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Sujet de la thèse

**LA BIOMINERALISATION DE *PECTEN MAXIMUS* L. :
ANOMALIES LIEES AUX PERTURBATIONS DU MILIEU.**

II. PLANCHES

Soutenue le 23 avril 1996 devant le jury composé de :

| | |
|--|------------|
| Mr Jean Pierre CUIF, Professeur à l'Université d'Orsay | Président |
| Mme Françoise LAGARDERE, Chercheur au CREMA, L'Houmeau | Rapporteur |
| Mr Gérard RICHARD, Professeur à l'Université de La Rochelle | Rapporteur |
| Mme Nicole DEVAUCHELLE, Chercheur à l'IFREMER, Brest | Examineur |
| Mr Marcel LE PENNEC, Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale | Examineur |
| Mme Germaine DORANGE, Maître de Conférence à l'IUT, Brest | Examineur |
| Mr Maurice HERAL, Directeur de Recherche au CREMA, L'Houmeau | Examineur |

La Biominéralisation de *Pecten maximus* L. : Anomalies liées aux Perturbations du Milieu.

Résumé : L'étude du brunissement pathologique des valves de la coquille Saint-Jacques a permis d'identifier différents types d'altérations des mécanismes de la calcification : des détériorations microstructurales concomitantes avec une pigmentation brune anormale de la couche interne des tests. Les mécanismes de biominéralisation contrôlant l'intégration du carbonate de calcium dans les structures coquillières ne sont pas altérés : le taux de calcium, la minéralogie et la composition en acides aminés des matrices organiques cristallines sont équivalents dans les valves brunes et les valves blanches. Par contre, la présence d'une eumélanine, responsable de la coloration brune, est détectée dans les matrices organiques insolubles des régions coquillières aux biocristaux difformes. Ce pigment perturbe donc les processus d'élaboration des cristaux calcitiques foliés, constituant la microstructure normale de *Pecten maximus*.

Ces altérations coquillières sont le signe d'une perturbation physiologique évidente chez l'organisme qui les a produites. Elles engendrent une dégradation des structures calcifiées propice au développement de parasites, générant à leur tour de profonds bouleversements dans les coquilles. La pigmentation et les altérations microstructurales constituent un signal précoce des perturbations affectant le bivalve, avant que celui-ci ne présente un affaiblissement visible dans sa chair, au niveau des organes commercialisés.

Un indice de brunissement des valves a été mis au point de façon à permettre l'observation synthétique de l'ampleur de la pathologie dans le milieu naturel. L'analyse des résultats souligne alors le brunissement intense des individus vivants dans les zones littorales instables, soumises aux apports d'eau douce, vecteurs de produits polluants. Cet environnement global, fragile et déséquilibré périodiquement, induit une amplification des réponses des organismes benthiques aux perturbations d'origines anthropiques. Dans ce contexte, la présence de toxiques a des répercussions très préjudiciables au développement normal d'espèces sensibles. Les problèmes de calcification chez la coquille Saint-Jacques sont alors considérés comme l'expression de stress physiologiques générés par des perturbations écologiques, particulièrement évidente en milieu très littoral. La distribution des anomalies coquillières en Rade de Brest confirme les facteurs de dégradation de l'environnement soulevés dans plusieurs des travaux scientifiques du Contrat de Baie -Rade de Brest-, notamment ceux enregistrés aux limites de l'espace marin et des estuaires.

Une première démarche expérimentale, sur des élevages en conditions contrôlées, a mis en évidence trois causes potentielles au développement des anomalies dans ces zones variables : une forte baisse de la salinité, et l'action de deux pesticides, à usage personnel ou agricole, couramment utilisés en Rade de Brest : le diuron et le mécoprop. C'est la première fois que de tels effets sont démontrés chez un Pectinidé. Les modifications induites dans les structures calcifiées sont rapidement mesurables par des méthodes de détection précoce des anomalies : l'analyse microstructurale et la colorimétrie.

Toutes ces caractéristiques associées au développement des anomalies de calcification chez *Pecten maximus*, en font un indicateur biologique pertinent des perturbations des milieux littoraux, très utile :

- à l'écologiste, dans la surveillance du milieu aquatique,
- au producteur (surtout chez cette espèce commerciale), pour l'estimation de l'état de santé des gisements coquilliers et des propriétés conchylicoles potentielles des zones littorales.

Mots clés : Calcification, Coquille, Mélanine, Microstructure, *Pecten maximus*, Mollusques. Perturbations environnementales, Biominéralisation.

Sommaire.

1. et 2. Le brunissement des coquilles de *Pecten maximus*.
3. Les manifestations des endobiontes : le *Polydora sp.*
4. Les manifestations des endobiontes : les algues vertes perforantes.
5. Les manifestations des endobiontes : les éponges perforantes.
6. Les dépôts organiques de type "anneau brun".
7. Les dépôts organiques atypiques.
8. et 9. L'organisation générale des microstructures coquillières.
10. Préparation de fragments de valves montrant les différents stades de brunissement de la couche interne, avant examen au microscope électronique à balayage.
11. La microstructure foliée de la couche interne chez les individus sains, entièrement blancs, et dans les endroits blancs des coquilles brunes.
12. Les altérations microstructurales des coquilles brunes. *Début de brunissement.*
13. Les altérations microstructurales des coquilles brunes. *Brunissement avancé.*
14. Les modifications structurales de la couche interne des valves de *Pecten maximus* associées à l'apparition d'anneaux bruns.
15. Les altérations générées par les infestations parasitaires, observées sur les coquilles brunes.
16. Organisation générale du manteau brun de *Pecten maximus* : individus sains.
17. La face interne du manteau.
18. Le bourrelet interne.
19. Le bourrelet médian.
20. Le sillon périostracal.
21. Les épithélia du sillon périostracal.
22. Le sillon périostracal et le périostracum.
23. Le bourrelet externe.
24. et 25. Les mélanines dans le manteau et dans la coquille.

26. Les dépôts organiques de type "anneau brun".
27. L'épithélium externe du manteau en contact avec les dépôts organiques.
28. Les gonades des coquilles conditionnées en milieu toxique.
29. Les gonades des coquilles conditionnées en milieu toxique. L'atrésie ovocytaire.
30. La microstructure foliée des valves de *Pecten maximus* avant conditionnement et des valves considérées comme non altérées par le traitement.
31. et 32. Les altérations microstructurales des valves des juvéniles de *Pecten maximus* traitées au diuron.
33. Les altérations des valves de *Pecten maximus* élevées en milieux hyposalins.
34. Les altérations microstructurales observées après divers traitements.

Planche 1

Le brunissement des coquilles de *Pecten maximus*.

Différentes étapes de la progression du phénomène, observées sur les valves planes d'individus adultes.

Echelle 3 cm.

A : Coquille âgée de 4 ans, blanche (indice 0),

B : Coquille âgée de 4 ans, présentant un début de coloration au niveau de la charnière et des marges antérieure et postérieure (indice 4),

C : Coquille âgée de 3 ans, présentant une coloration brune soutenue, au niveau des marges du compartiment externe (indice 12.5),

D : Coquille âgée de 4 ans, présentant une coloration brun clair dans tout le compartiment externe (indice 12),

E : Coquille âgée de 5 ans, présentant une coloration brun foncé dans tout le compartiment externe (indice 20), et une infestation d'algues vertes perforantes dans la zone d'insertion du muscle adducteur,

F : Coquille âgée de 2 ans, présentant une coloration brune dans tout le compartiment externe et dans le compartiment interne, dans la région proche du ligament (indice 21),

G : Coquille âgée de 3 ans, présentant une coloration brun foncé dans les compartiments externe et interne (indice 23),

H : Coquille âgée de 5 ans, présentant une coloration brun foncé sur toute la surface de la valve, sauf sous le muscle adducteur (indice 26). Le compartiment interne est recouvert d'une grande chambre de *Polydora sp.*

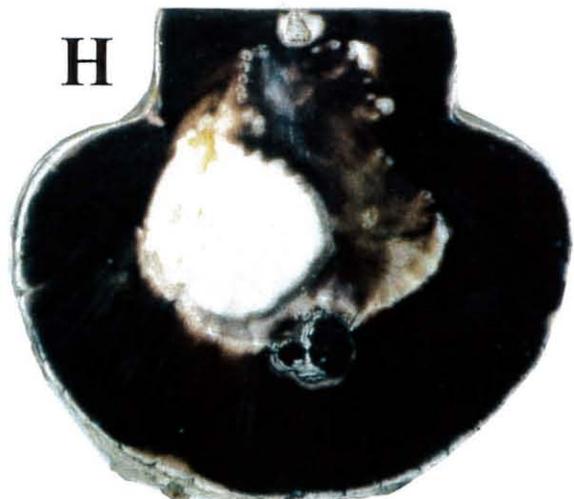
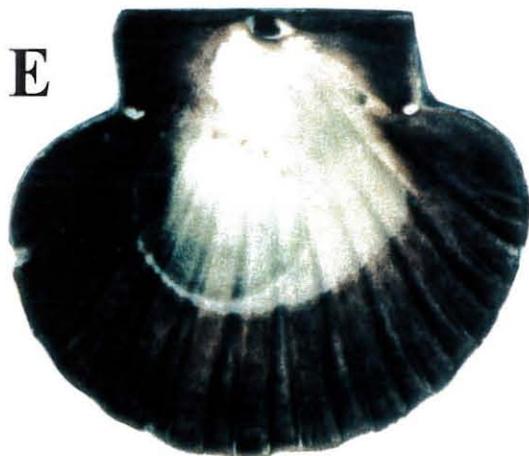


Planche 2

Le brunissement des coquilles de *Pecten maximus*.

1. Détail de la marge ventrale d'une valve brun clair. La couleur est uniforme dans tous le compartiment externe, et intégrée dans la calcite foliée.

2. Représentation des différents stades de brunissement :

- 1 : coquille blanche,
- 2 : brunissement des "oreilles",
- 3 : brunissement des marges de croissance,
- 4 : brunissement du compartiment externe,
- 5 : progression vers le compartiment interne,
- 5p : stade 5, parasité.

Echelle 5 cm

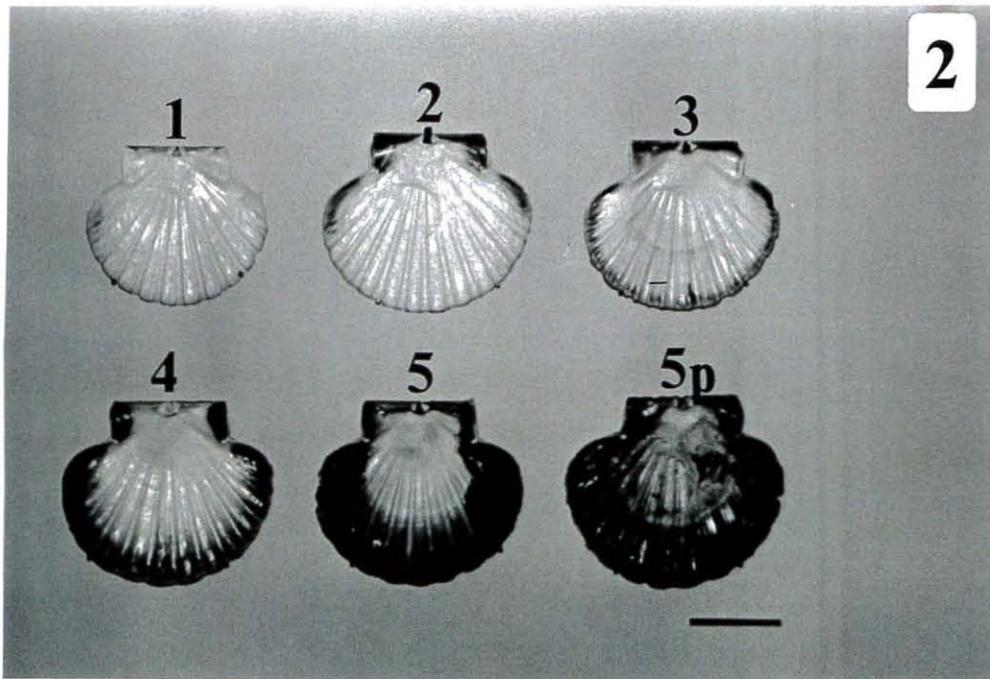


Planche 3

Les manifestations des endobiontes : le *Polydora* sp.

1. Valves droites et gauches de différentes coquilles parasitées par un Annélide perforant *Polydora hoplura*, qui provoque un chambrage (cp) de la coquille, très étendu dans le compartiment interne. L'installation du ver entre le manteau et la coquille induit la formation d'une membrane organique qui l'encapsule. Cette membrane est ensuite progressivement recouverte par les sécrétions coquillières.

Echelle 3 cm.

2. Chambre de *Polydora* (cp), en forme de tube recourbé, dans la marge ventrale d'une valve gauche.

Echelle 1 cm.

3. Détail d'une chambre de *Polydora*. La croûte organique (co), ici en partie recalcifiée, couvre les boues de déjection (bd) du ver, installé dans un tube à la base de la ligne palléale (lp).

Stéréomicroscope, échelle 2 mm.

cp : chambre de *Polydora hoplura*.

co : croûte organique.

lp : ligne palléale.

zi : zone d'insertion musculaire.

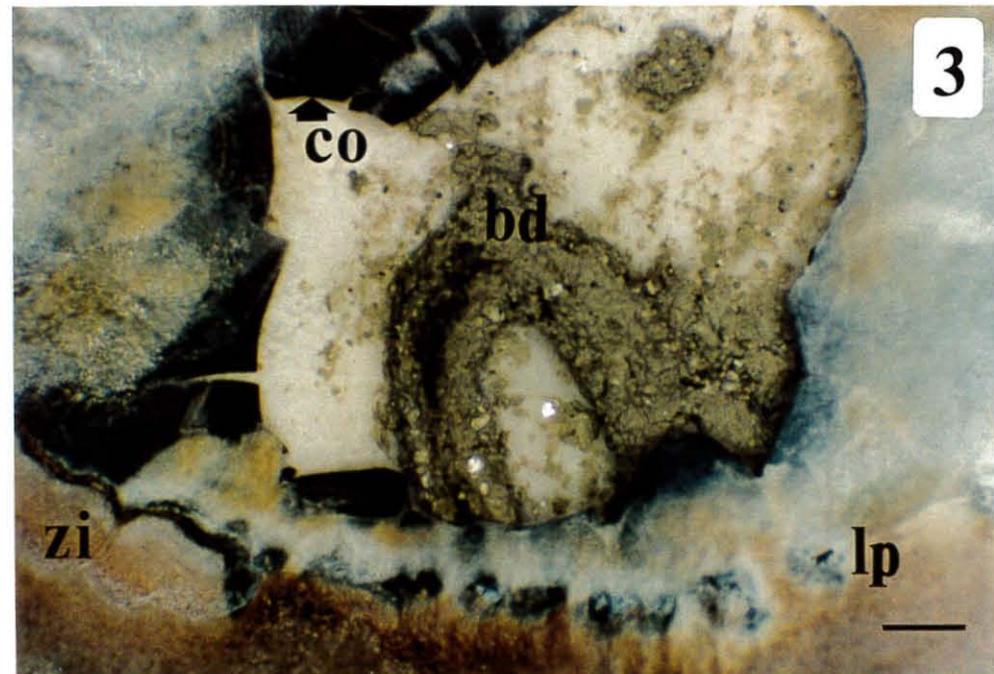
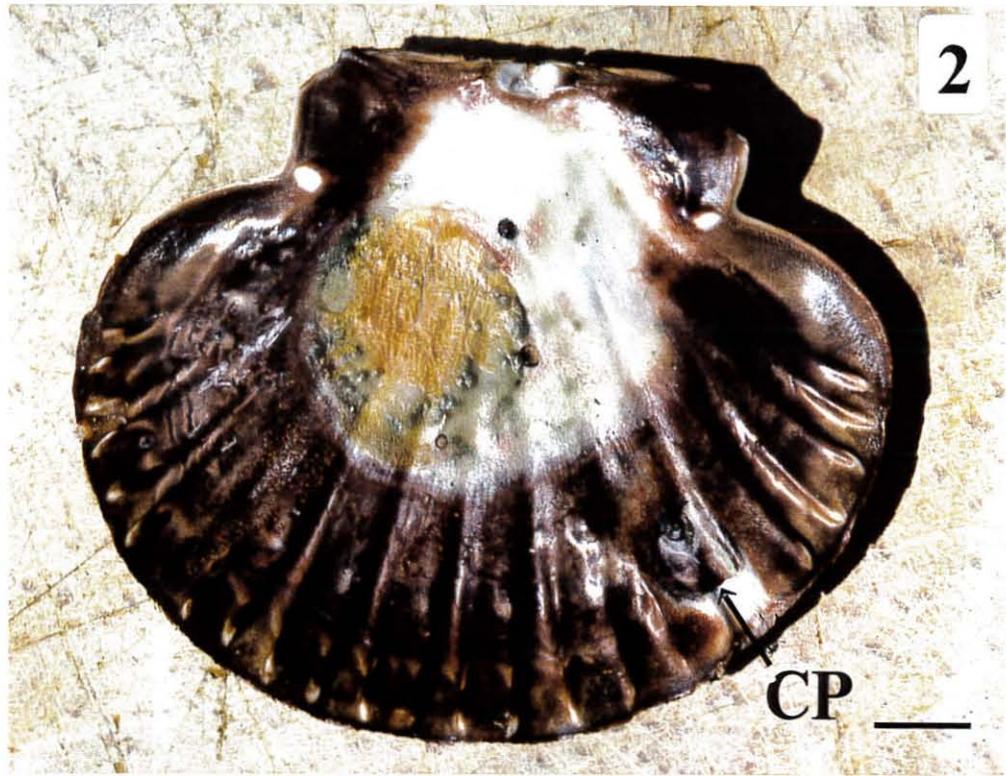


Planche 4

Les manifestations des endobiontes : les algues vertes perforantes.

1. Valve gauche fortement parasitée par des endobiontes : des *Polydora sp.* (cp) et des algues vertes (avp), très développées sous le muscle adducteur, en particulier sous les fibres striées.
Echelle 1 cm.

2 et 3. Détails de la surface coquillière dans les zones envahies d'algues vertes. L'affleurement de ces parasites au contact du manteau peut provoquer la formation de pustules (p).
Stéréomicroscope, échelle 1 mm.

cp : chambre de *Polydora*.

avp : algues vertes perforantes.

p : pustules.

zima : zone d'insertion du muscle adducteur.

zimp : zone d'insertion des muscles palléaux.

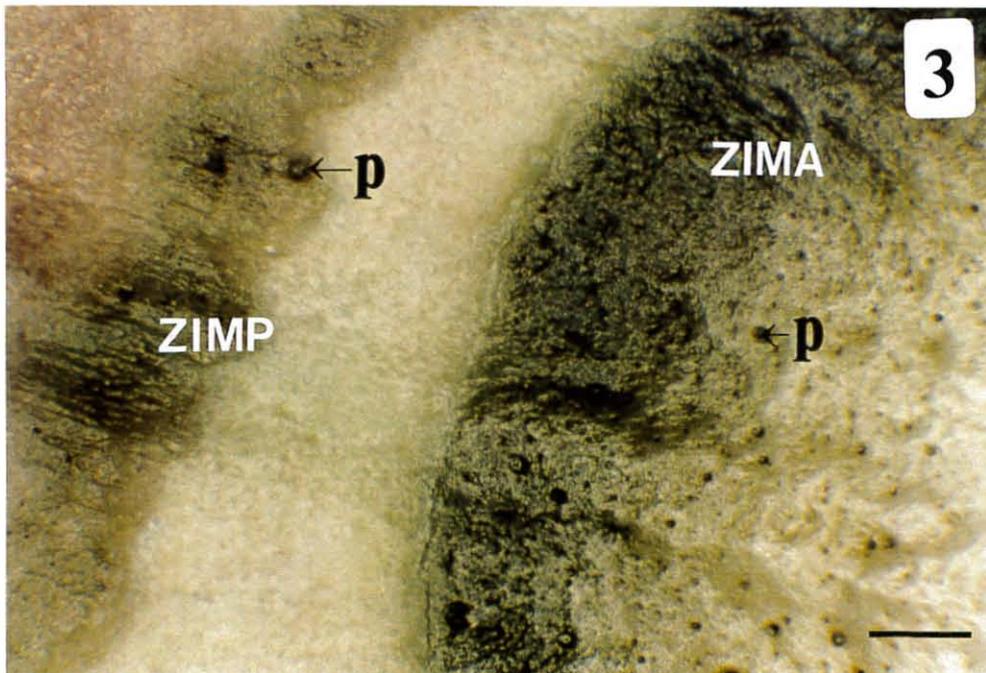
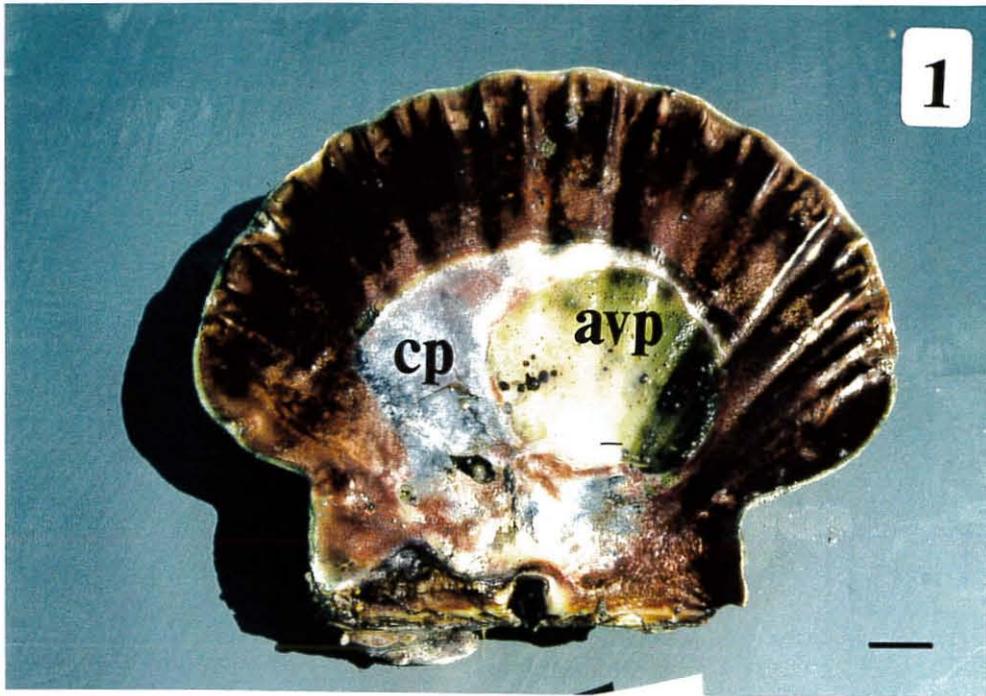


Planche 5

Les manifestations des endobiontes : les éponges perforantes.

1. Les orifices des galeries forées par les éponges (oge), sur la face externe (fe) de la coquille.
Stéréomicroscope, échelle 1 mm.

2 et 3. Détails de zones de fracture dans la coquille fragilisée par les perforations dues aux éponges : toute l'épaisseur du test est creusé de profondes galeries (g), des pustules se forment lorsque la couche interne est perforée et que l'endobionte touche le manteau.
Stéréomicroscope, échelle 1 mm.

fe : face externe de la valve.

fi : face interne de la valve.

g : galerie.

oge : orifice de galérie.

p : pustule.

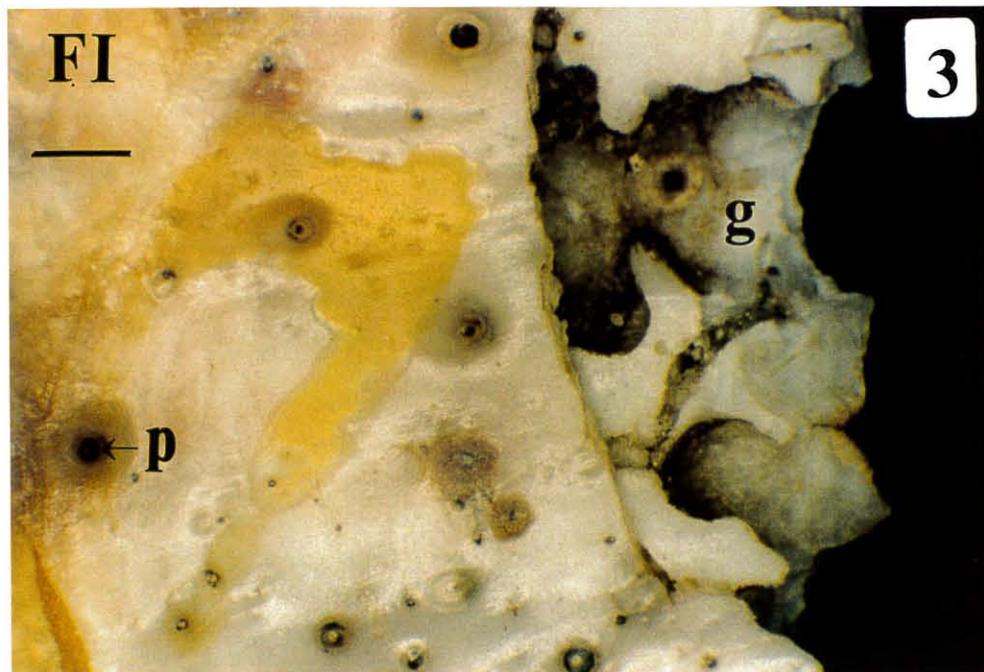
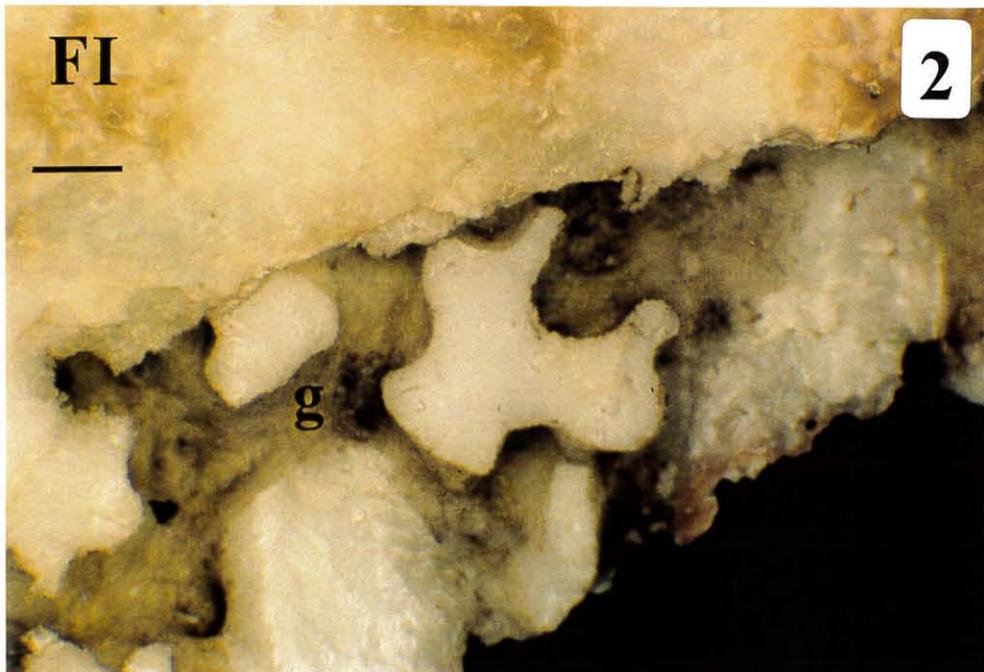
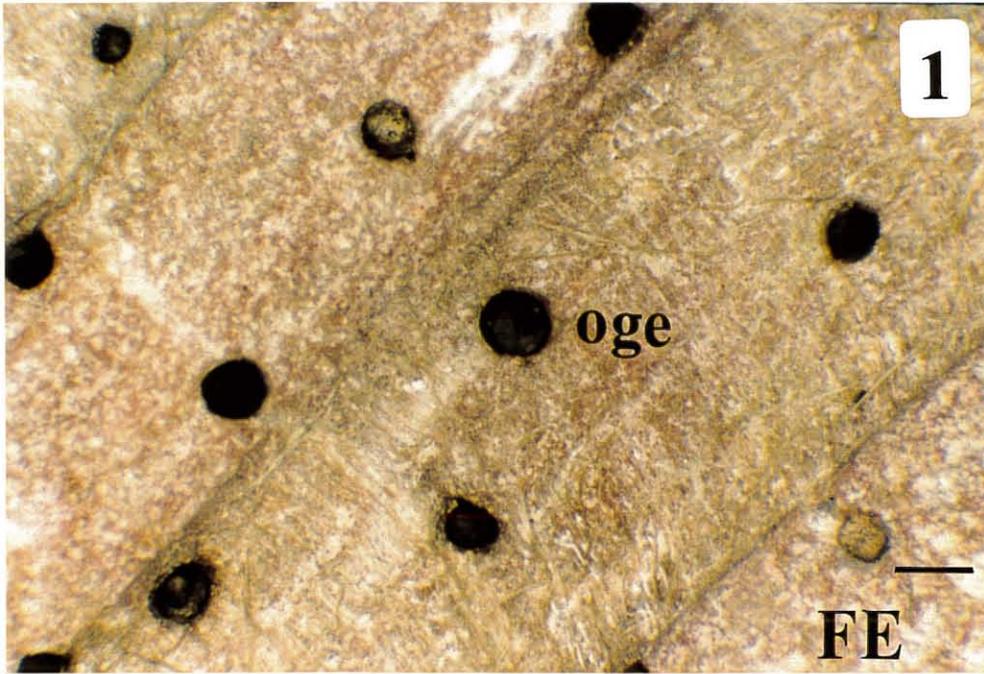


Planche 6

Les dépôts organiques de type anneaux bruns.

1. Compartiment externe de la coquille recouvert d'un dépôt organique (de) régulier, formant un anneau autour de la valve.

Stéréomicroscope, échelle 2 mm.

2. L'anneau de matériel organique déposé au bord de la valve est recouvert partiellement de sécrétion coquillère. On distingue les granules de sécrétion de carbonate de calcium (gc) à la surface de la membrane organique.

Stéréomicroscope, échelle 2 mm.

3. Anneau brun recouvert, sec et craquelé. Le dépôt organique (de) est visible sous la croûte calcifiée (c), dans les zones de craquelure.

Stéréomicroscope, échelle 1 mm.

b : bord de la coquille.

c : croûte organique.

de : dépôt organique.

gc : granules de sécrétions calcifiés.

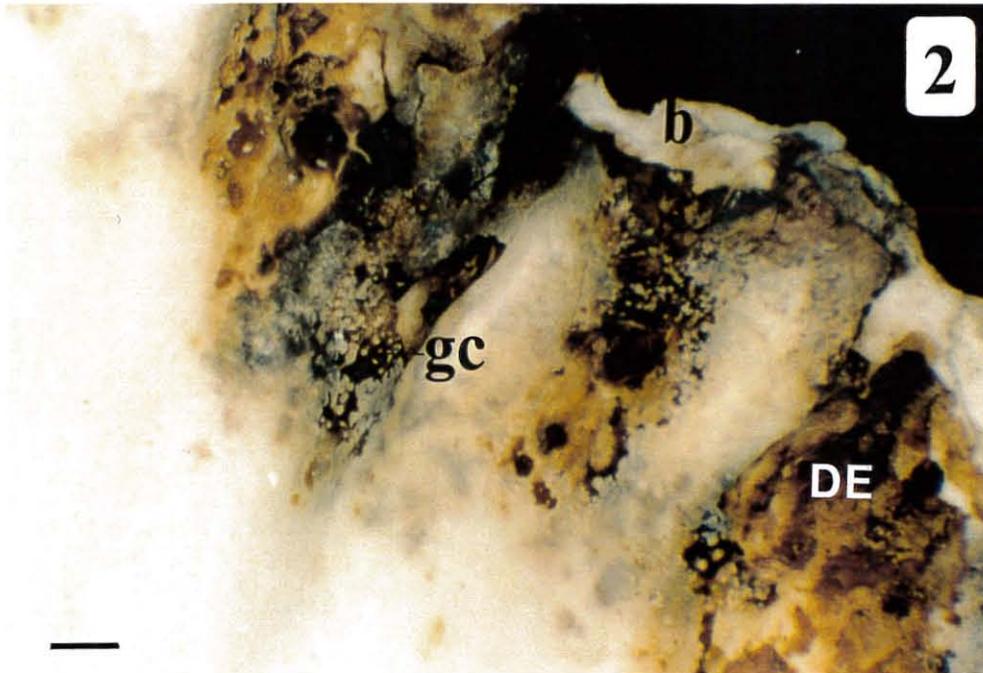
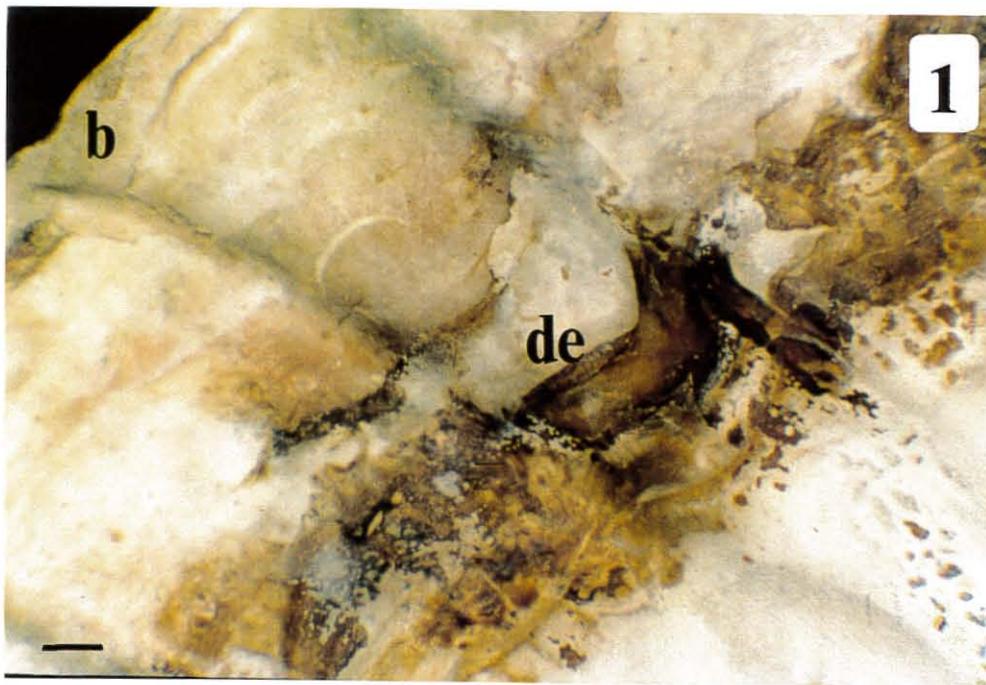


Planche 7

Dépôts organiques atypiques

1. Détail d'un dépôt brun partiellement recouvert, à la limite du muscle adducteur, dans le compartiment interne de la coquille.

Echelle 1 cm.

2. Dépôt organique brun (db), sale, sur une coquille blanche (co), en cours de recouvrement (c).

Séréomicroscope, échelle 1 mm.

3. Dépôt brun recouvert (c), craquelé, sur une zone où des grains de sable (s) se sont infiltrés, probablement lors d'un dragage antérieur.

Séréomicroscope, échelle 1 mm.

4. Dépôt brun recouvert (dr).

Séréomicroscope, échelle 1 mm.

c : croûte calcifiée.

co : surface interne de la coquille sous le dépôt organique.

db : dépôt brun.

dr : dépôt recouvert

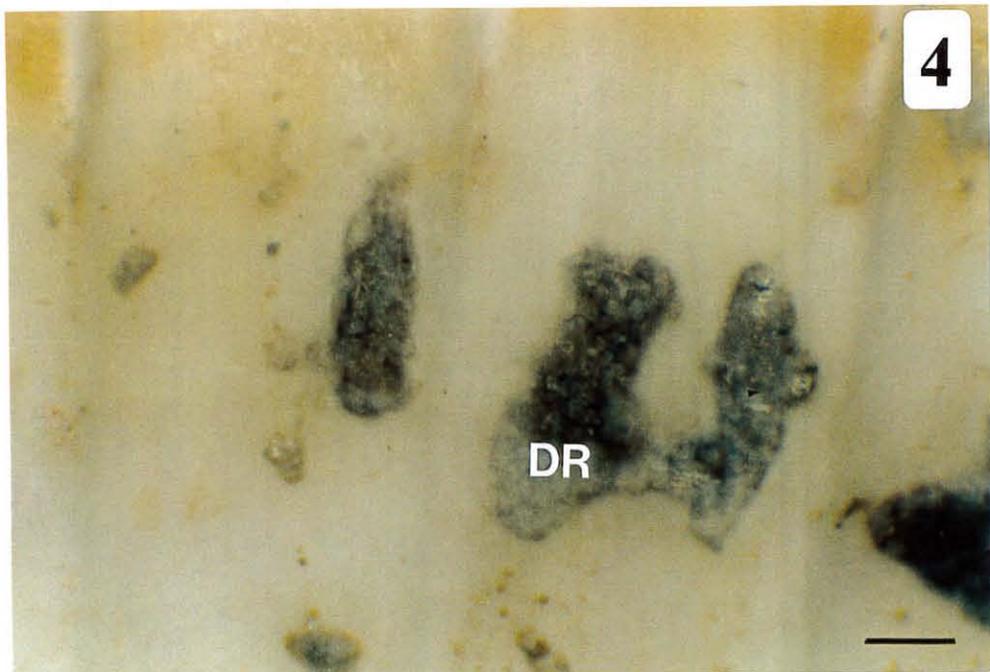
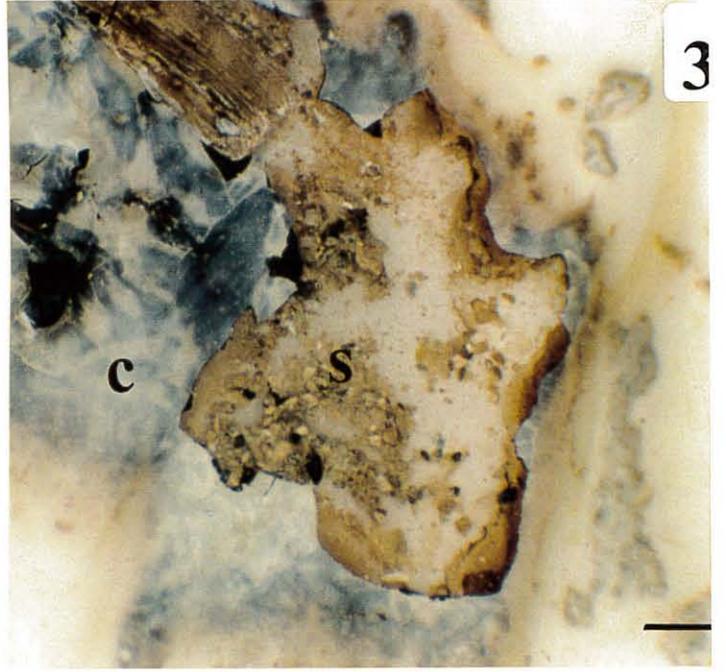
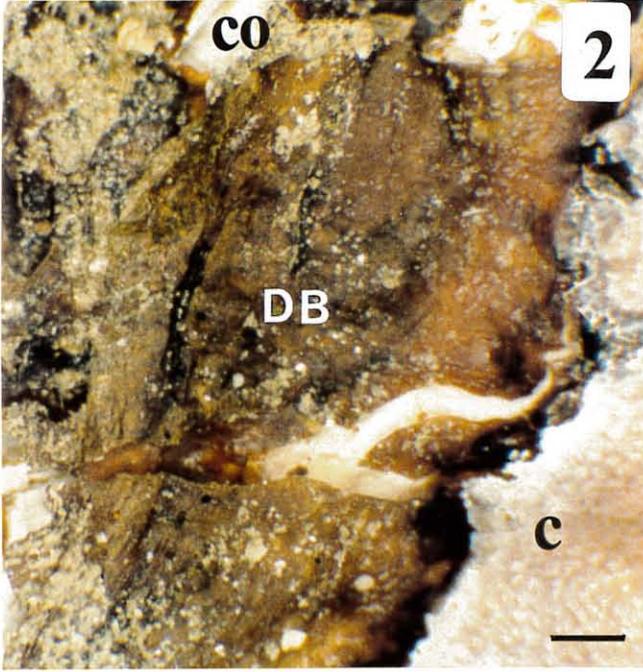
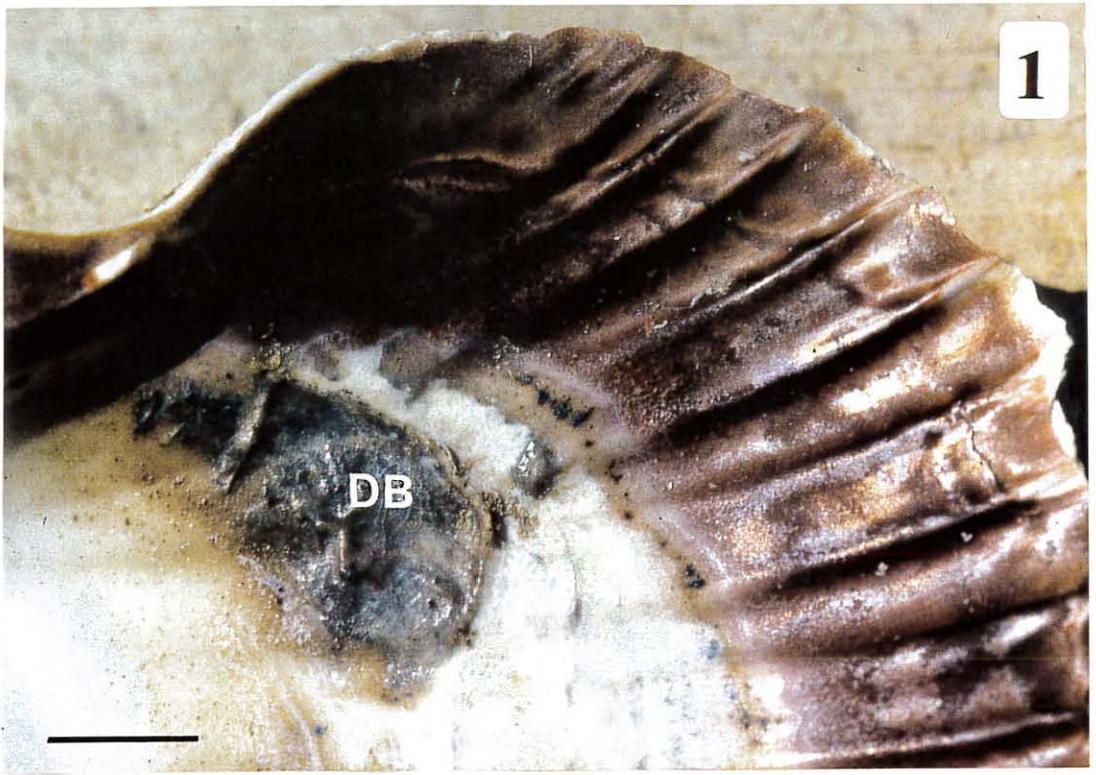


Planche 8

L'organisation générale des microstructures coquillières.

A. Fracture transversale du bord palléal de la coquille. On distingue les lamelles perforées (lp) de la couche externe et la surface de la couche interne (ci).

MEB, échelle 1mm.

B. Rapport entre les lamelles perforées (lp) et la couche de fibrocristaux sous-jacente (ce). Dans la partie supérieure de la couche externe (ps), la structure cristalline semble en continuité avec les lamelles, alors que dans la partie inférieure (pi), les fibres sont disposées en grands faisceaux assez irréguliers dirigés en biais vers le bord de croissance de la coquille.

MEB, échelle 1mm.

C. Les lamelles perforées formant la surface externe de la coquille. Les perforations (p) sont très nombreuses et irrégulières, la lame est plus épaisse à sa base qu'à son extrémité.

MEB, échelle 1mm.

D et E. Détails de la surface externe des lames en cours de calcification, non encore recouvertes de périostracum. On distingue ce dernier (p) au fond des perforations, accolé à la surface cachée de la valve, et les extrémités des cristaux sur la surface en regard.

MEB, échelle 20 et 5 μ m.

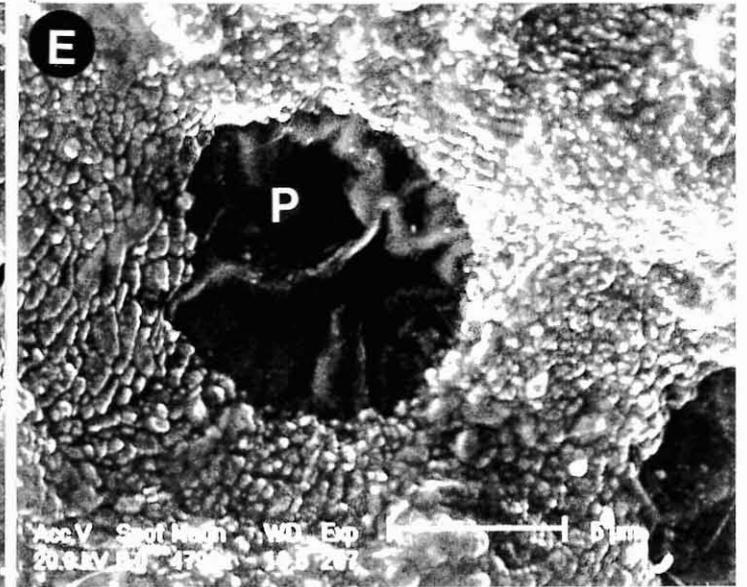
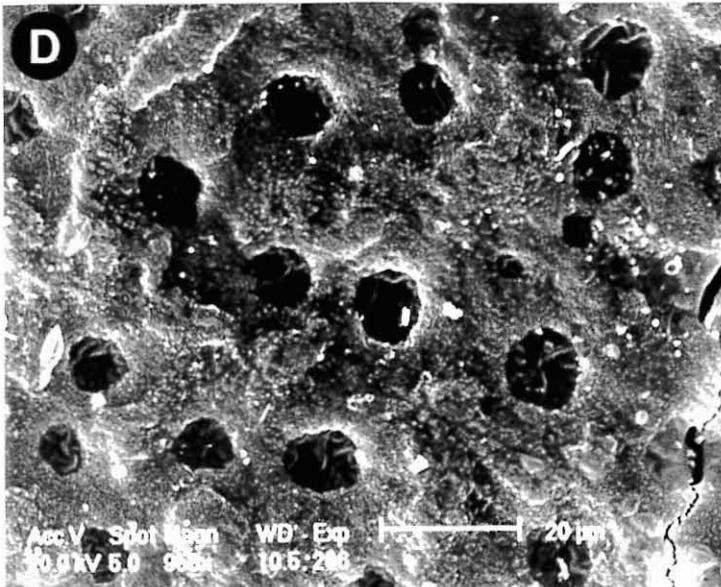
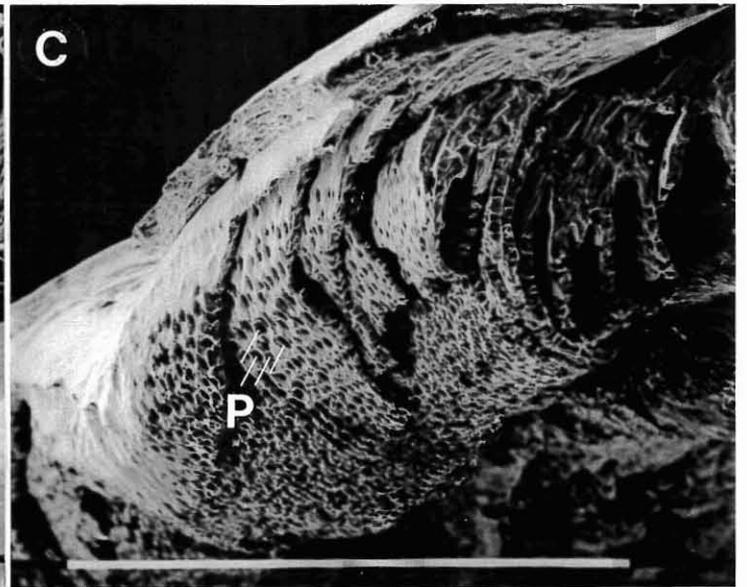
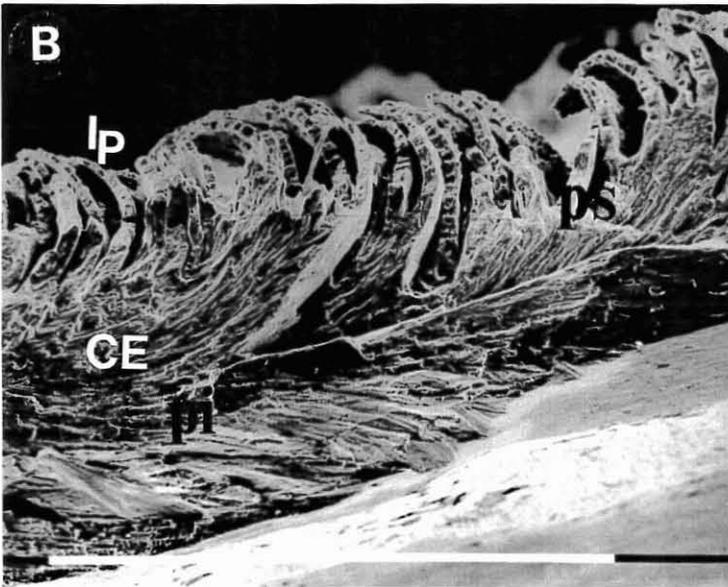
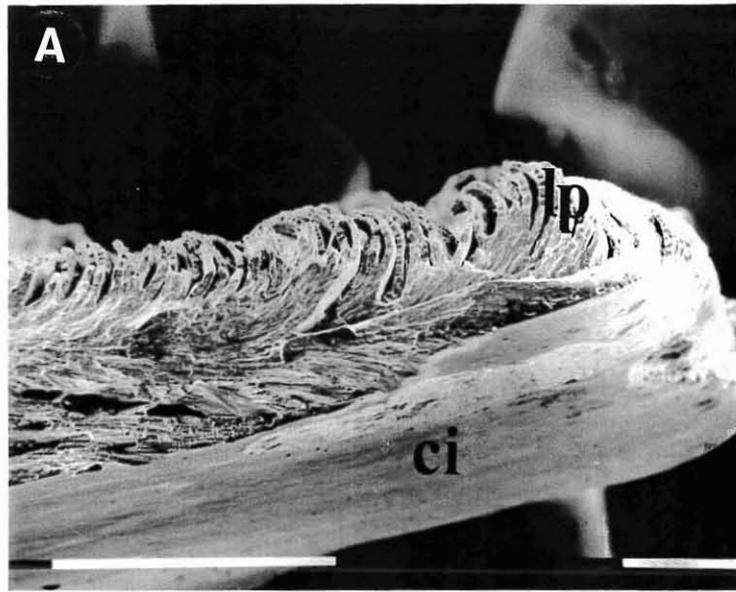


Planche 9

L'organisation générale des microstructures coquillières.

F et G. Les différences d'organisation de la couche externe et de la couche médiane. Cette dernière est formée de faisceaux cristallins fibreux, irrégulièrement disposés.

MEB, échelle 1mm et 100 μ m.

H et I. Aspect microstructural de la couche médiane, où les faisceaux de cristaux fibreux se croisent irrégulièrement.

MEB, échelle 100 et 10 μ m.

J. Surface polie, puis attaquée à l'acide, d'une coupe transversale du bord de la coquille. On y distingue les différentes couches coquillières : la couche externe (ce), la couche médiane (cm), où les faisceaux cristallins affleurent, irrégulièrement et la couche interne (ci), épaisse, formée de couches successives de cristaux foliés arrangés régulièrement dans le plan formé par la surface des valves. Cette dernière couche assure à la coquille sa solidité, du fait-même de sa structure.

MEB, échelle 100 μ m.

K. Détail de la couche externe.

MEB, échelle 100 μ m.

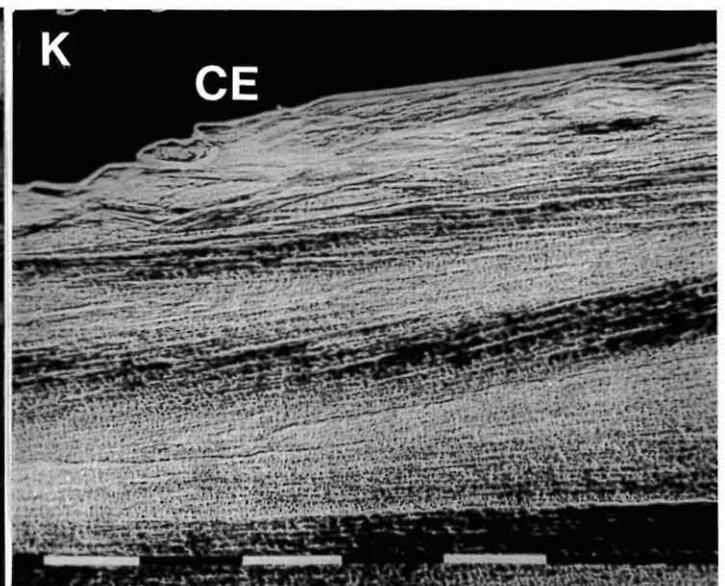
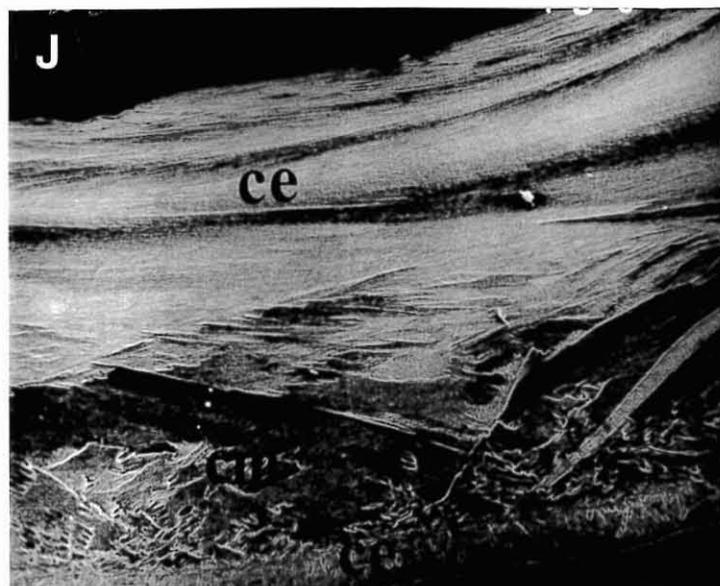
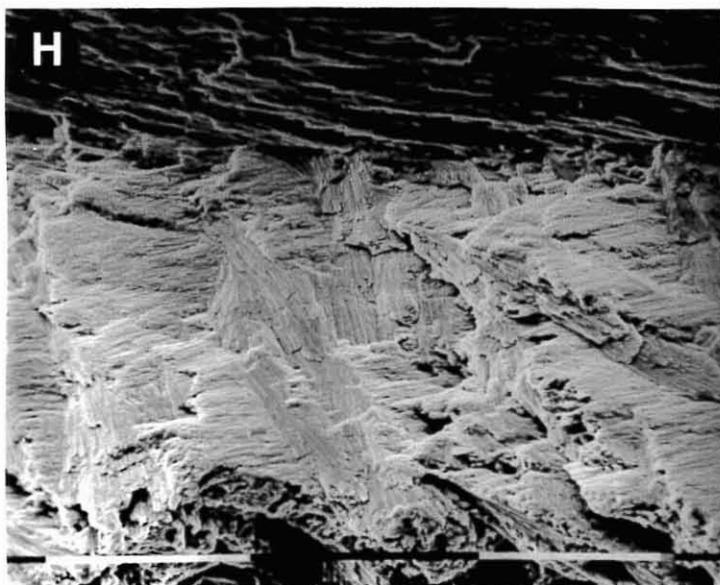
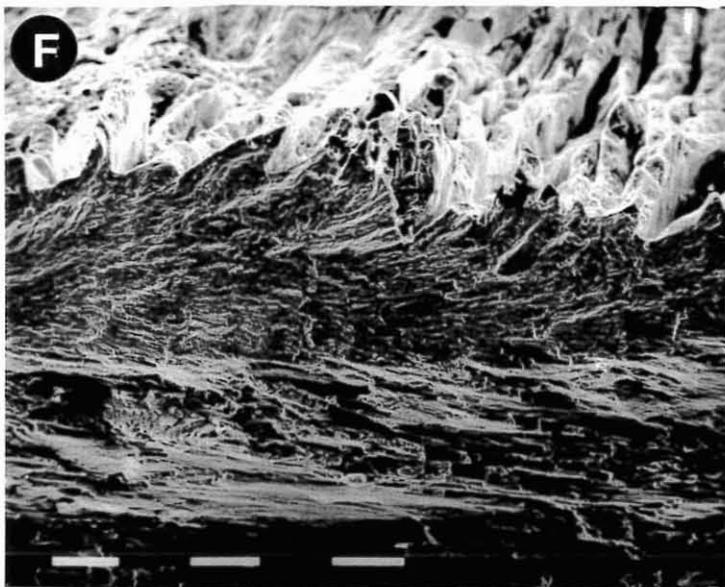


Planche 10

**Préparation de fragments de valves montrant
les différents stades de brunissement de la couche interne,
avant examen au microscope électronique à balayage.**

1. Couche interne blanche.

2 et 3. Couche interne présentant un début de coloration.

4. Couche interne brune.

Séréomicroscope, Echelle en mm.



Planche 11

La microstructure foliée de la couche interne chez les individus sains, entièrement blancs, et dans les endroits blancs des coquilles brunes.

L. Aspect général de l'organisation des faisceaux de cristaux foliés à la surface interne des valves blanches.

MEB, échelle 50 μ m.

M. Les faisceaux cristallins affleurant à la surface interne -surface de croissance cristalline.

MEB, échelle 10 μ m.

N, O, P et Q. Les cristaux foliés typiques de la microstructure de la couche interne des coquilles saines de *Pecten maximus*. Les marges latérales et apicales des cristaux sont bien régulières. Dans l'épaisseur de certaines lattes (Q), on distingue les empilements réguliers des couches de croissance cristalline. Des ponts organiques relient parfois les enveloppes des cristaux les unes aux autres.

MEB, échelle 10 μ m.

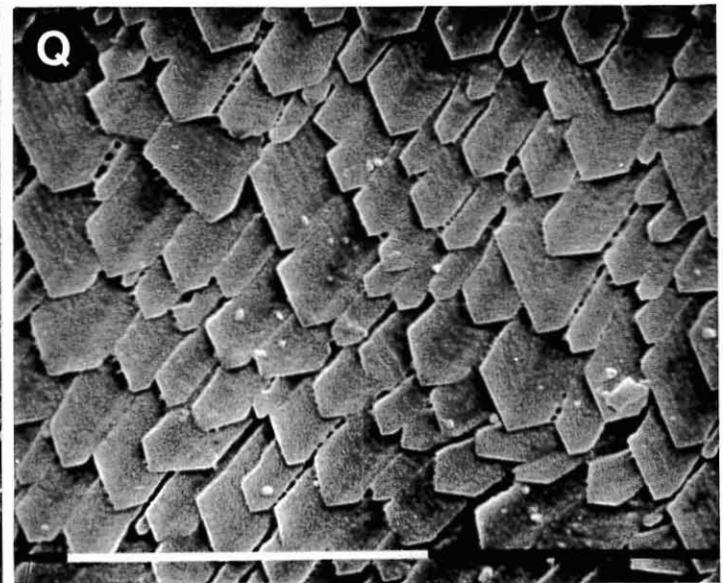
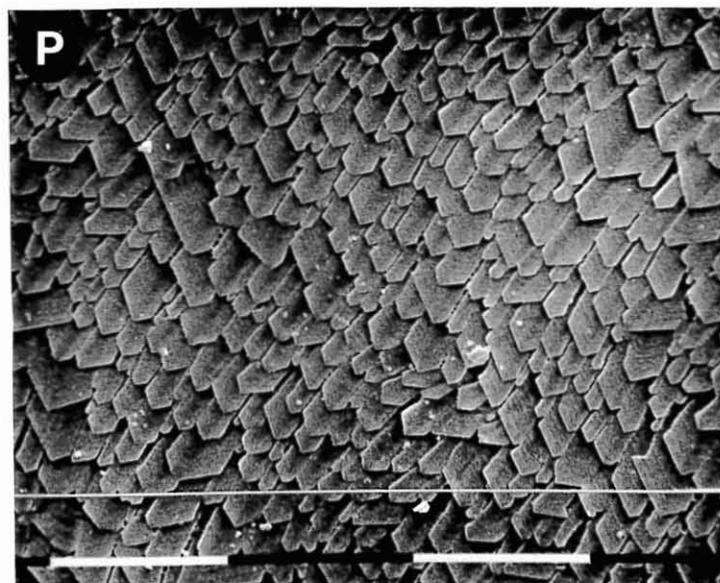
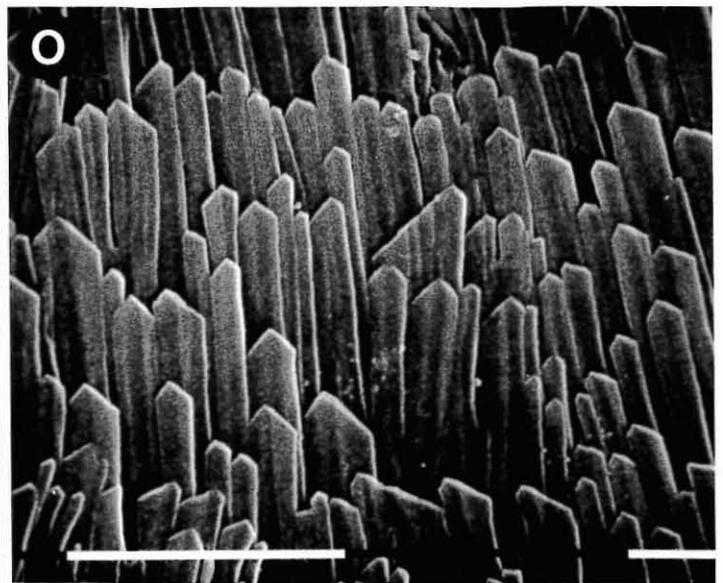
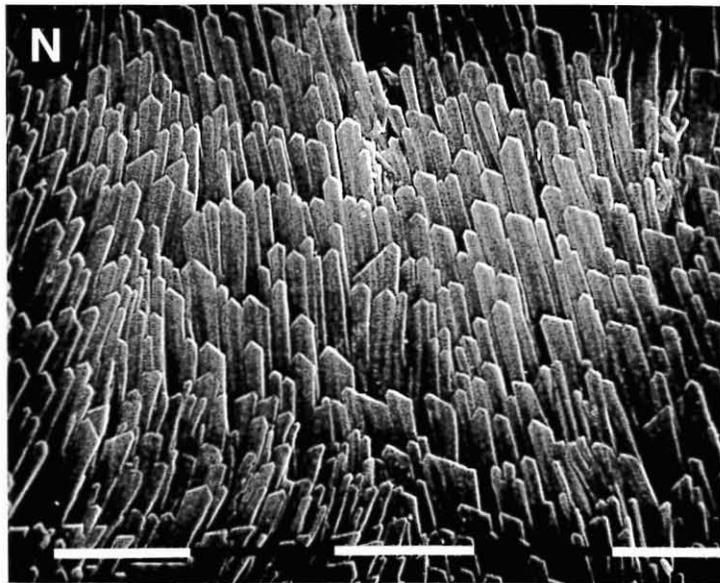
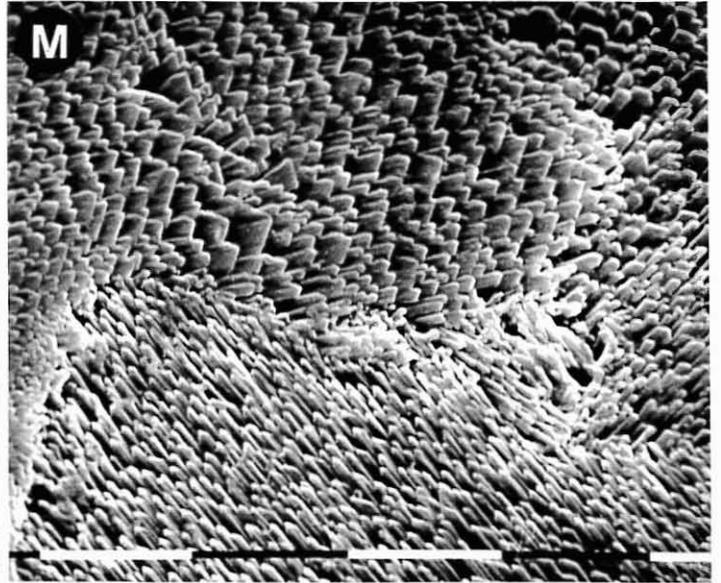
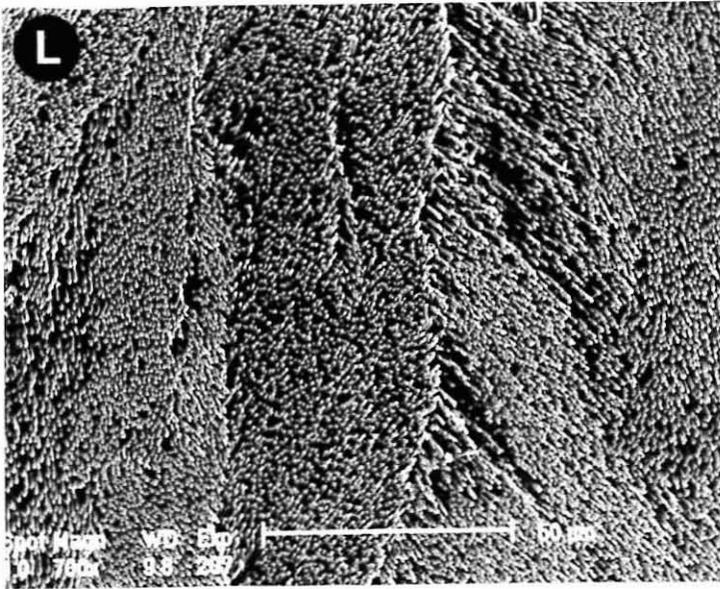


Planche 12

Les altérations microstructurales des coquilles brunes. *Début de brunissement.*

R et S. Les cristaux foliés sont encore distincts, mais leur extrémité, voire leurs marges latérales, sont bien "rongées".
MEB, échelle 10 μ m.

T. Les extrémités cristallines sont altérées et dédoublées, comme si un nouveau type cristallin se mettait en place, formé de petits cristaux quadrangulaires.
MEB, échelle 10 μ m.

U. L'organisation et l'aspect des fibrocristaux sont complètement bouleversés. La microstructure foliée est remplacée par un réseau de fibres minces, souvent tordues.
MEB, échelle 10 μ m.

V. La microstructure foliée a disparu, les cristaux néoformés sont très irréguliers et forment une structure lacuneuse.
MEB, échelle 10 μ m.

W. Les cristaux foliés semblent complètement englués, leurs extrémités sont boursouflées.
MEB, échelle 10 μ m.

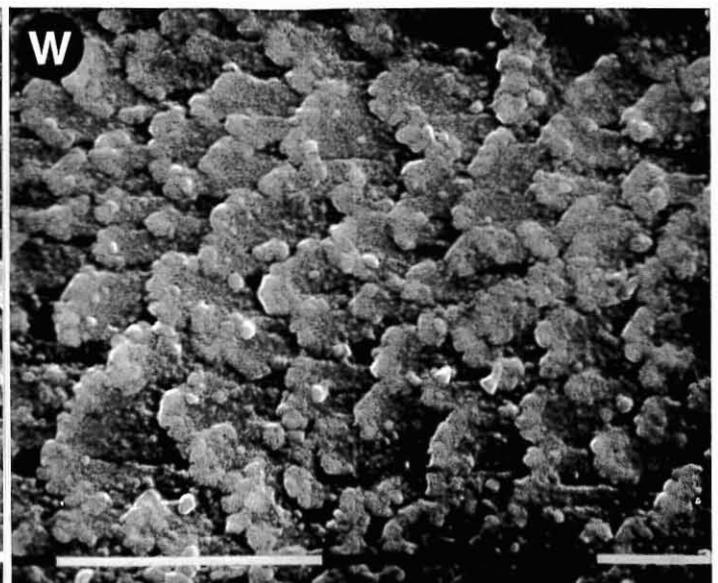
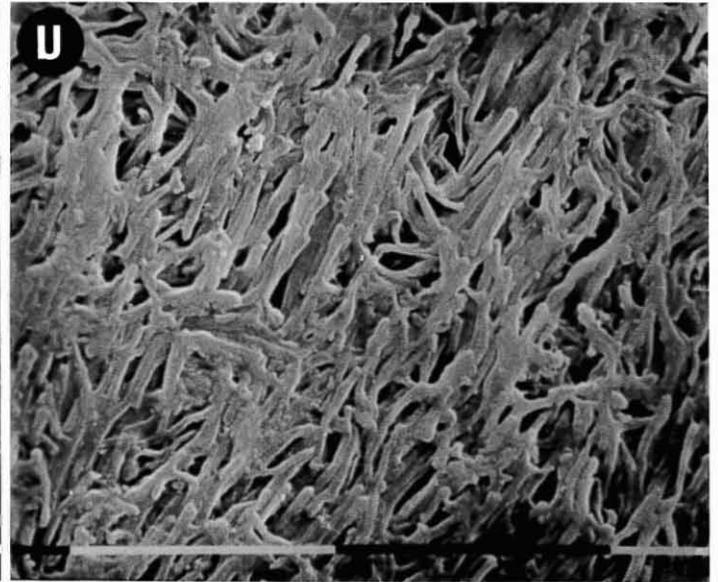
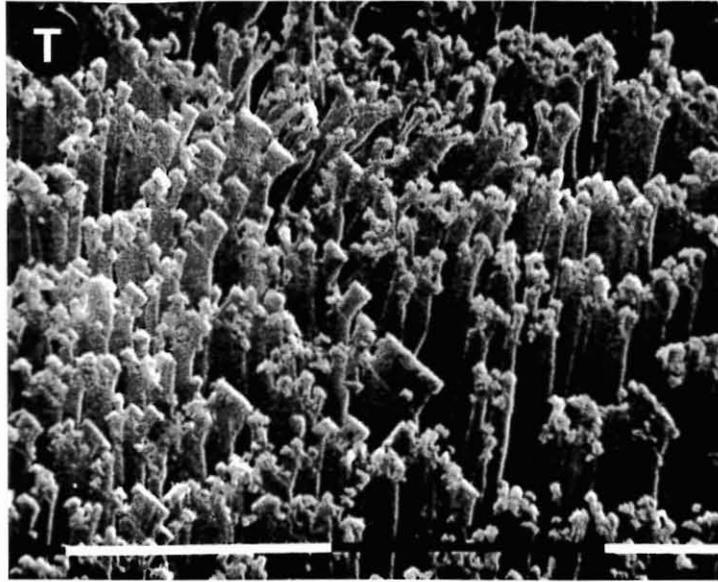
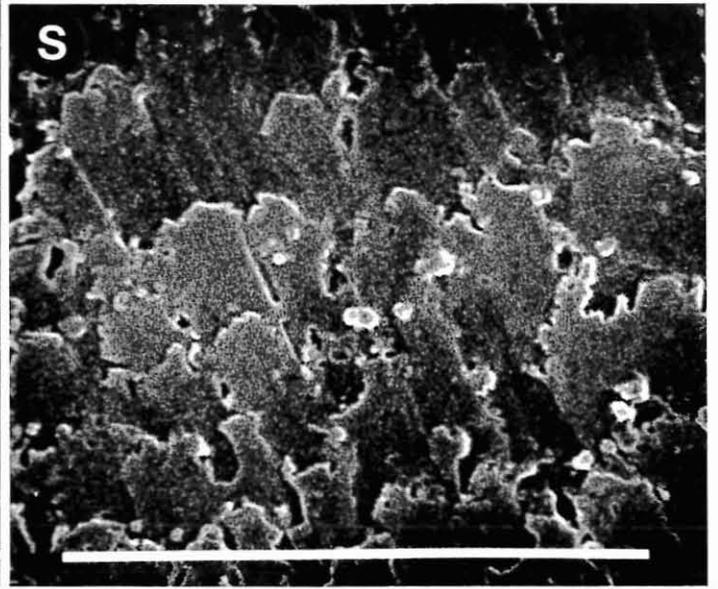
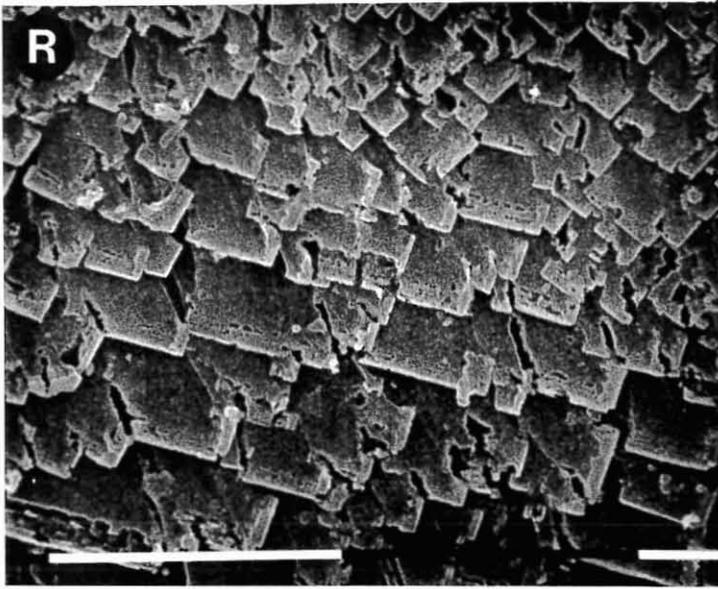


Planche 13

Les altérations microstructurales des coquilles brunes. *Brunissement avancé.*

X et Y. Surface interne d'une valve de coquille très brune. La microstructure foliée est remplacée par un empilement de cristaux plus ou moins quadrangulaires, sans organisation précise.

MEB, échelle 10 μ m.

Z. La microstructure foliée est désorganisée, les cristaux semblent plus courts, et moins bien formés.

MEB, échelle 10 μ m.

&. La surface interne est complètement différente de celle d'une coquille saine, la structure cristalline est lacuneuse et très désorganisée.

MEB, échelle 10 μ m.

\$ et £. La microstructure foliée semble encore distincte sous une couche de concrétions calcifiées sans forme précise, déposée au niveau des extrémités de croissance dédoublées des cristaux sous-jacents.

MEB, échelle 10 μ m.

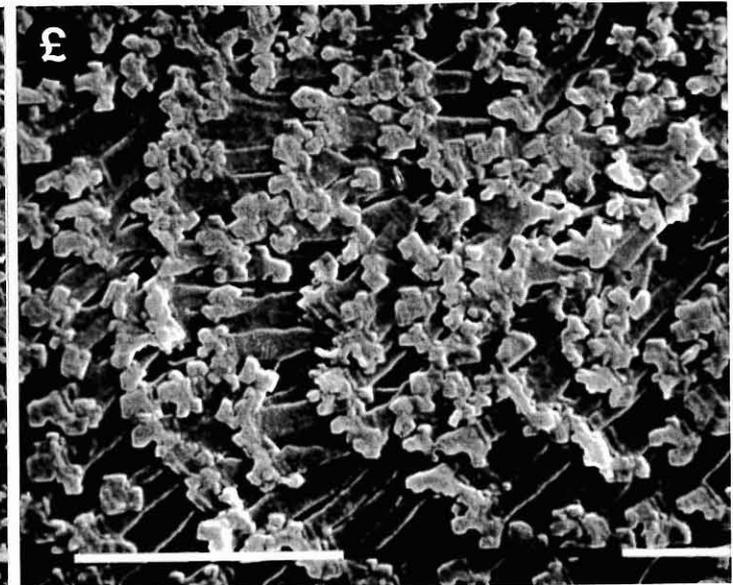
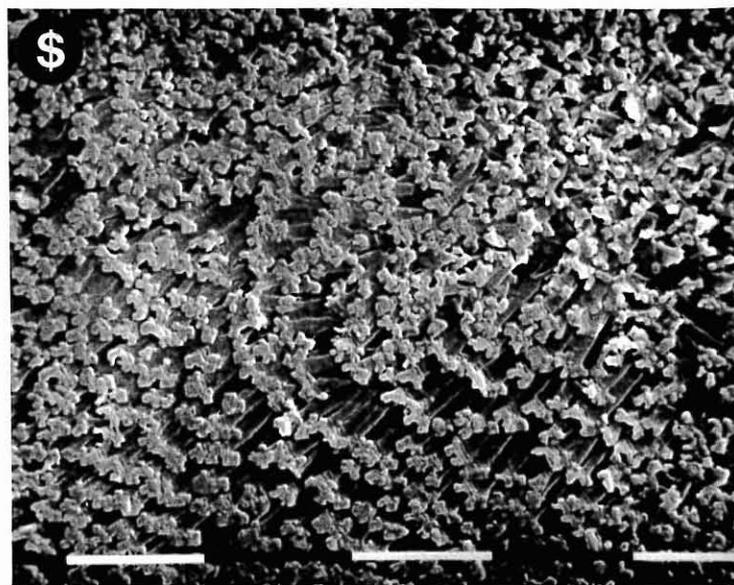
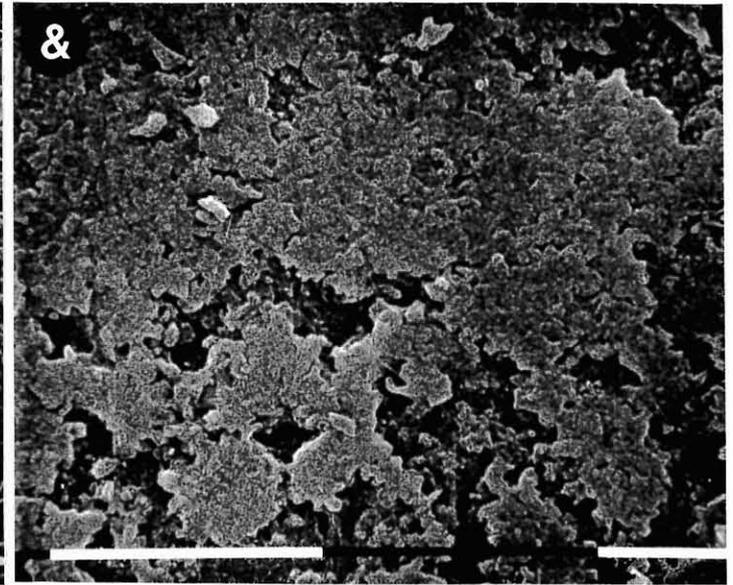
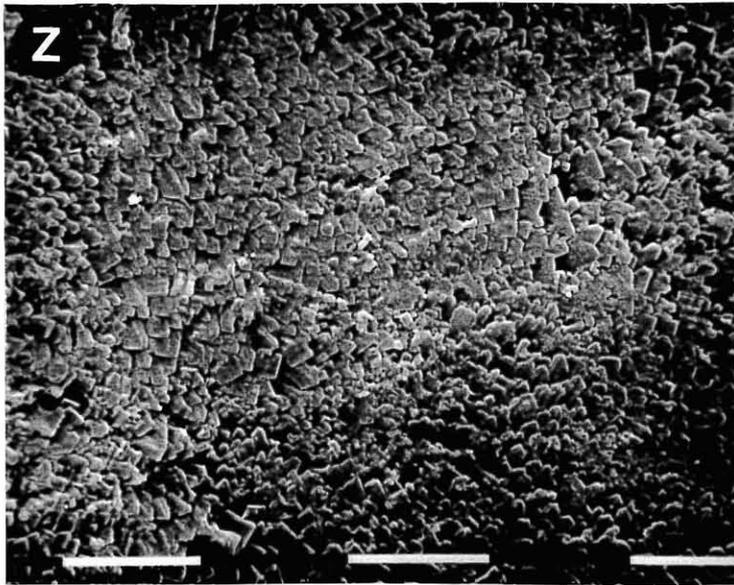
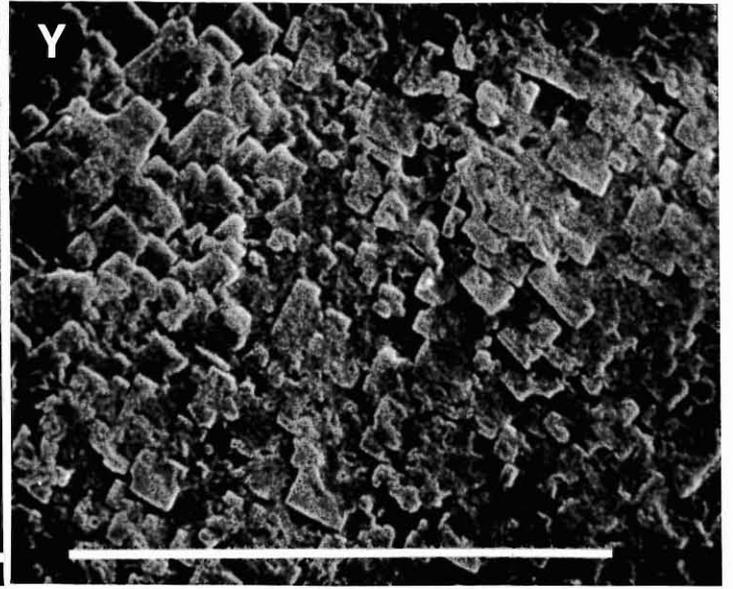
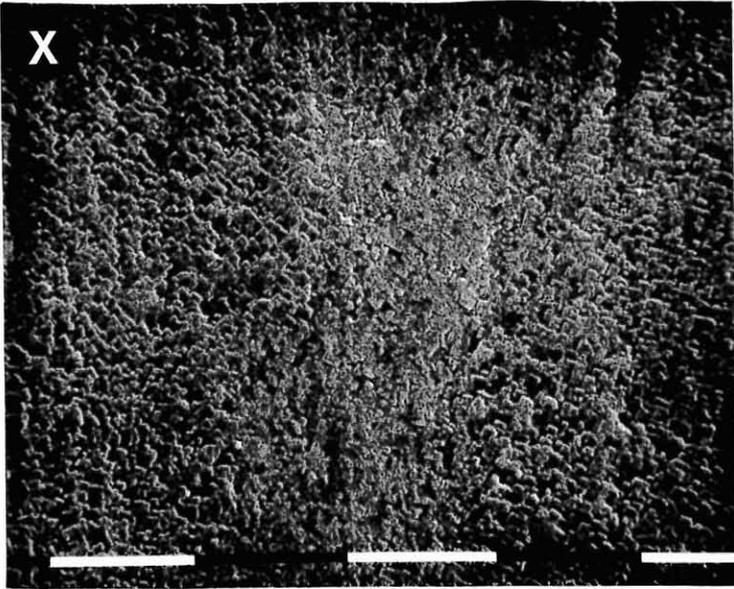


Planche 14

Les modifications structurales de la couche interne des valves de *Pecten maximus* associées à l'apparition d'anneaux bruns.

1. La surface interne d'une valve présentant des dépôts organiques craquelés. Les membranes se sont enroulées sur elles-mêmes lors du séchage de la coquille.
MEB, échelle 10mm.

2. Dépôt organique partiellement recouvert, formant une pustule à la surface de la valve.
MEB, échelle 10mm.

3. Surface de la couche interne, sous les membranes organiques. On distingue encore les fantômes des cristaux foliés, mais ils ont été "rongés" sur toute leur longueur.
MEB, échelle 10 μ m.

4. Surface des dépôts organiques, craquelée, où l'on voit apparaître de petits batonnets ovoïdes englués dans la matière organique.
MEB, échelle 10 μ m.

5. Bord de la pustule, en cours de recouvrement, à droite le dépôt organique, à gauche les concrétions calcifiées.
MEB, échelle 10 μ m.

6. Détail de la surface des zones en cours de recalcification par dessus un dépôt organique brun les cristaux sont très irréguliers, plutôt quadrangulaires, et dirigés perpendiculairement à la surface de la valve.
MEB, échelle 10 μ m.

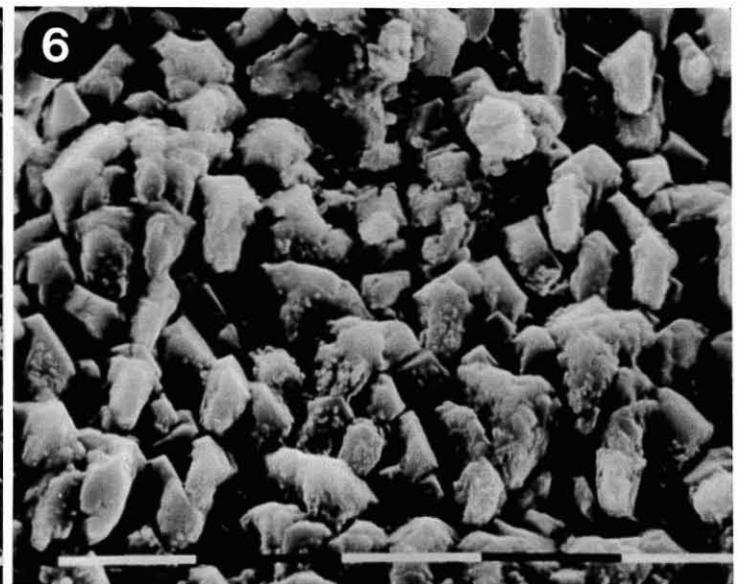
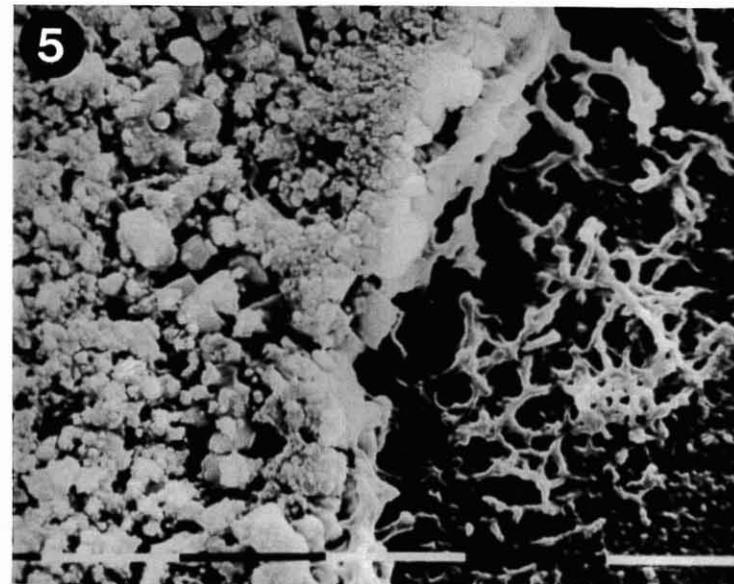
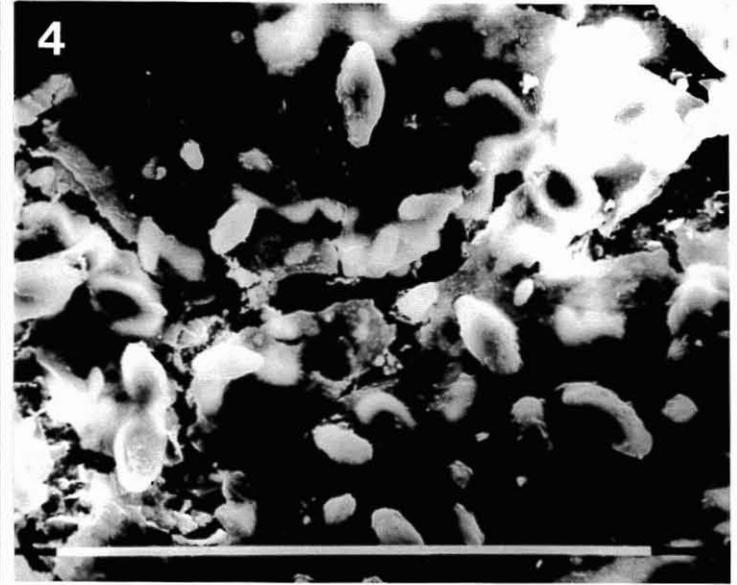
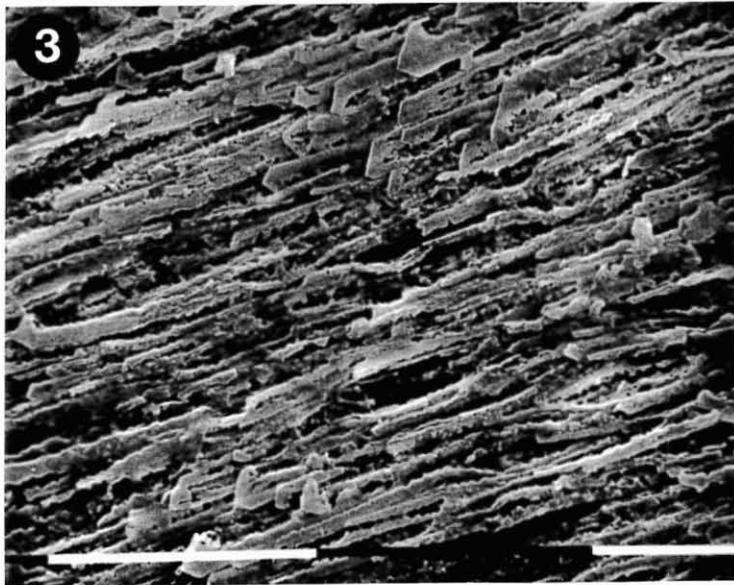
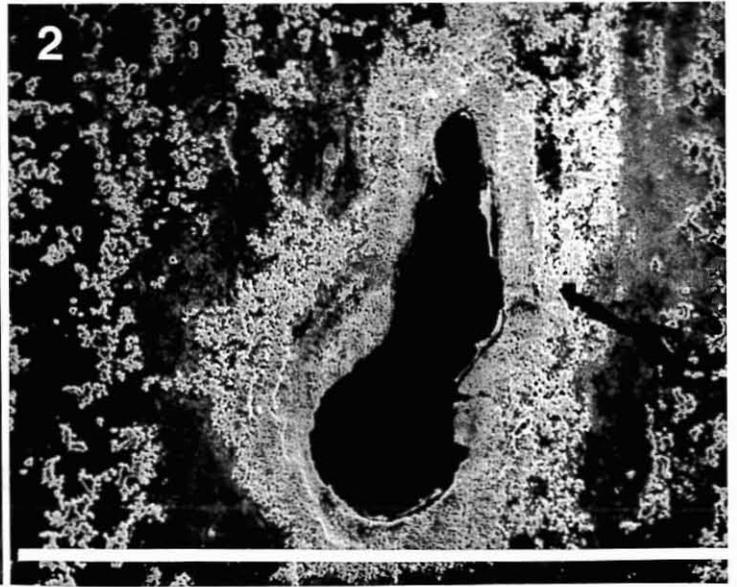
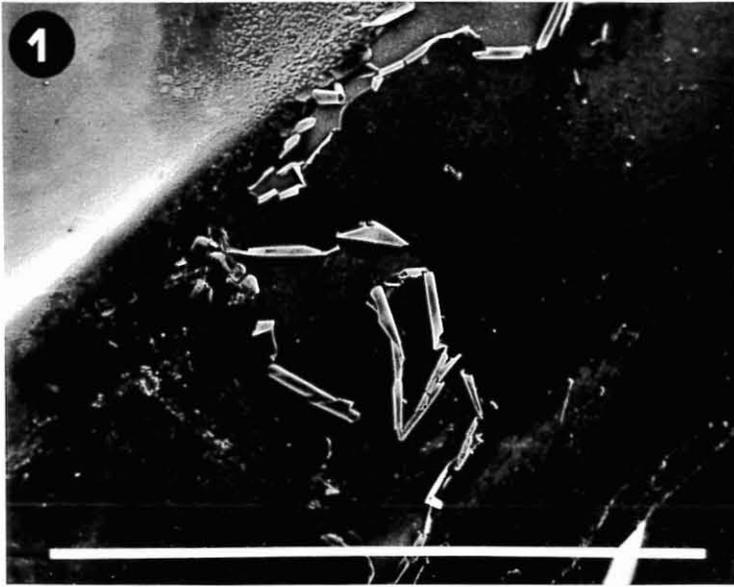


Planche 15

Les altérations générées par les infestations parasitaires, observées sur les coquilles brunes.

1. Les galeries creusées par les perforants (*Polydora sp.* ou éponges) à la surface de la couche interne des valves.

MEB, échelle 500 μ m

2. Hyphes de champignons perforants installées dans la structure coquillière.

MEB, échelle 20 μ m

3. Les orifices des galeries forées par les *Polydora sp.*

MEB, échelle 100 μ m

4. Les cristaux des parois des galeries ont été partiellement dissous par le parasite, rongés comme par une attaque acide.

MEB, échelle 10 μ m

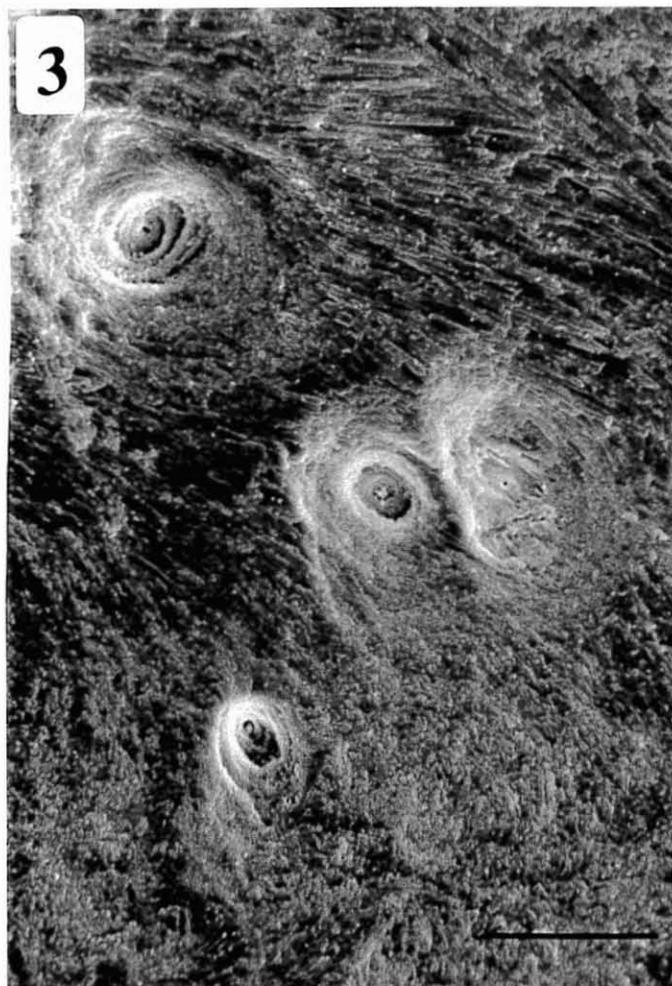
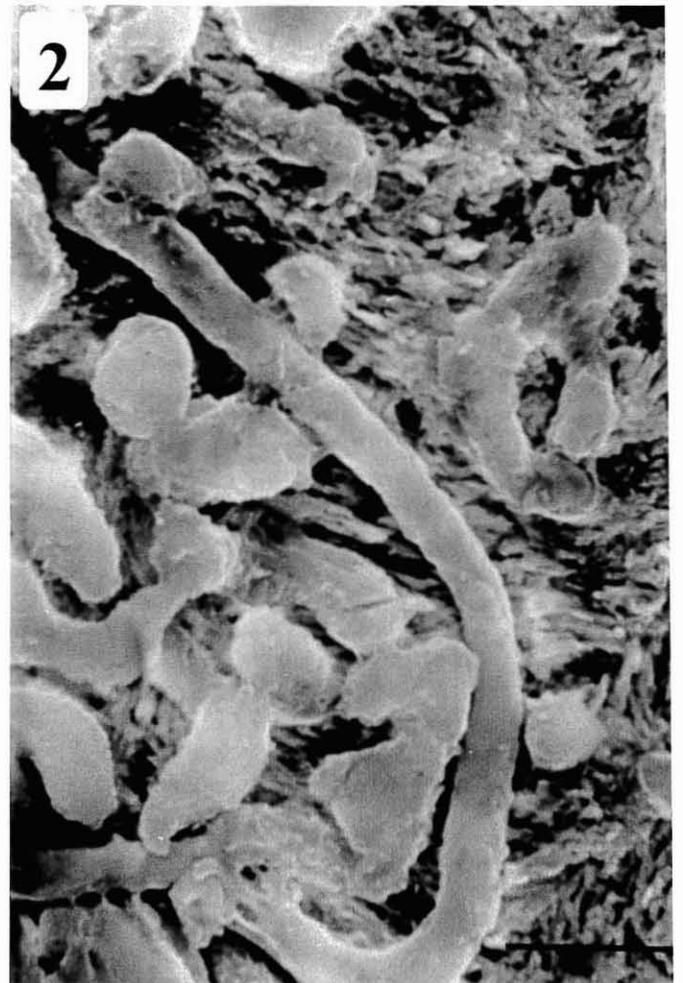
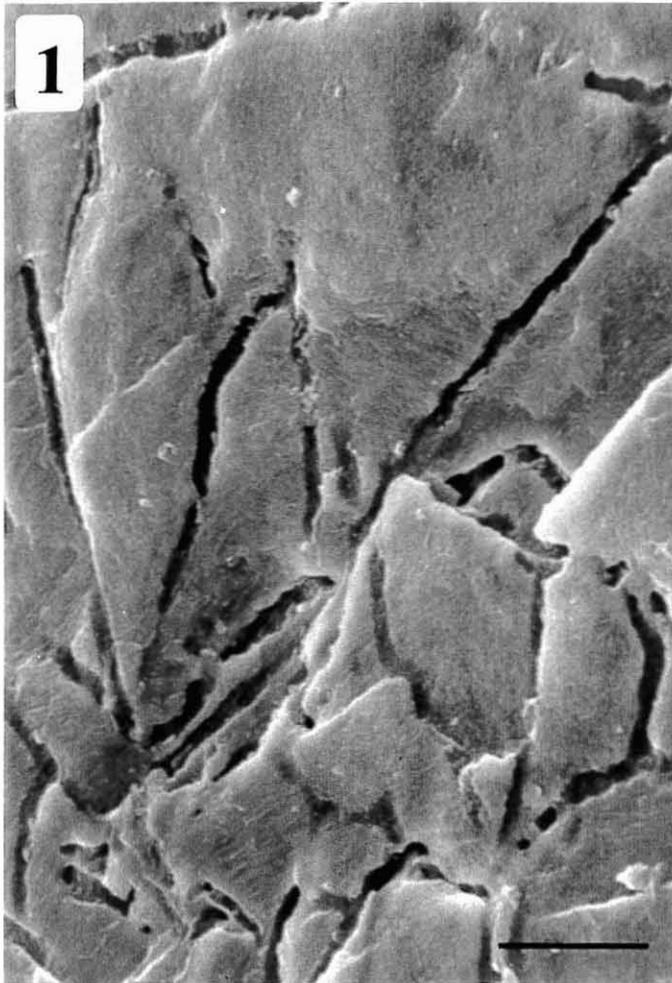


Planche 16

Organisation générale du manteau de *Pecten maximus* : individus sains.

1. Coupe transversale au niveau du bord palléal du manteau. On distingue les trois bourrelets, le bourrelet interne (bi) très développé et musculéux, le bourrelet médian (bm) subdivisé en 4 lobes, portant les yeux (o), et le bourrelet externe (be).

Coloration trichrome de Masson, échelle : 500 μ m.

2. Coupe transversale du bord palléal du manteau, passant par le centre de deux tentacules tactiles (tt). On distingue bien le sillon périostracal (sp) entre le bourrelet externe et le lobe le plus externe du bourrelet médian.

Coloration trichrome de Masson, échelle : 1mm.

be : bourrelet externe.

bi : bourrelet interne.

bm : bourrelet médian.

cp : cavité palléale.

fe : face externe du manteau.

fi : face interne du manteau.

o : oeil.

sp : sillon périostracal.

tt : tentacule tactile.

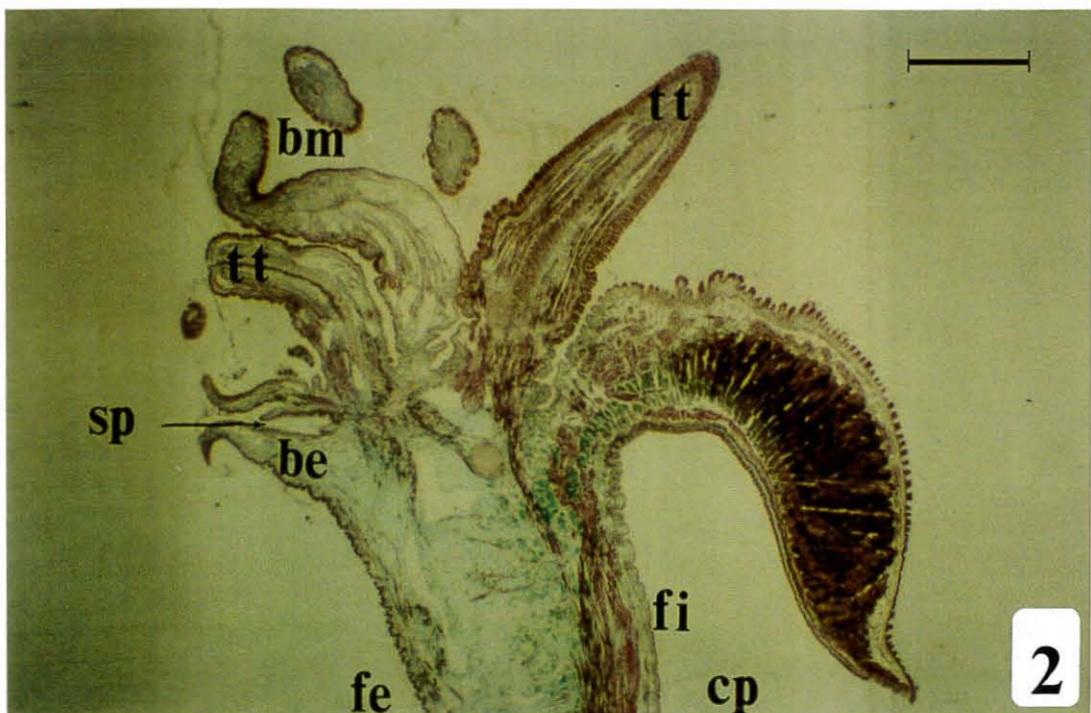
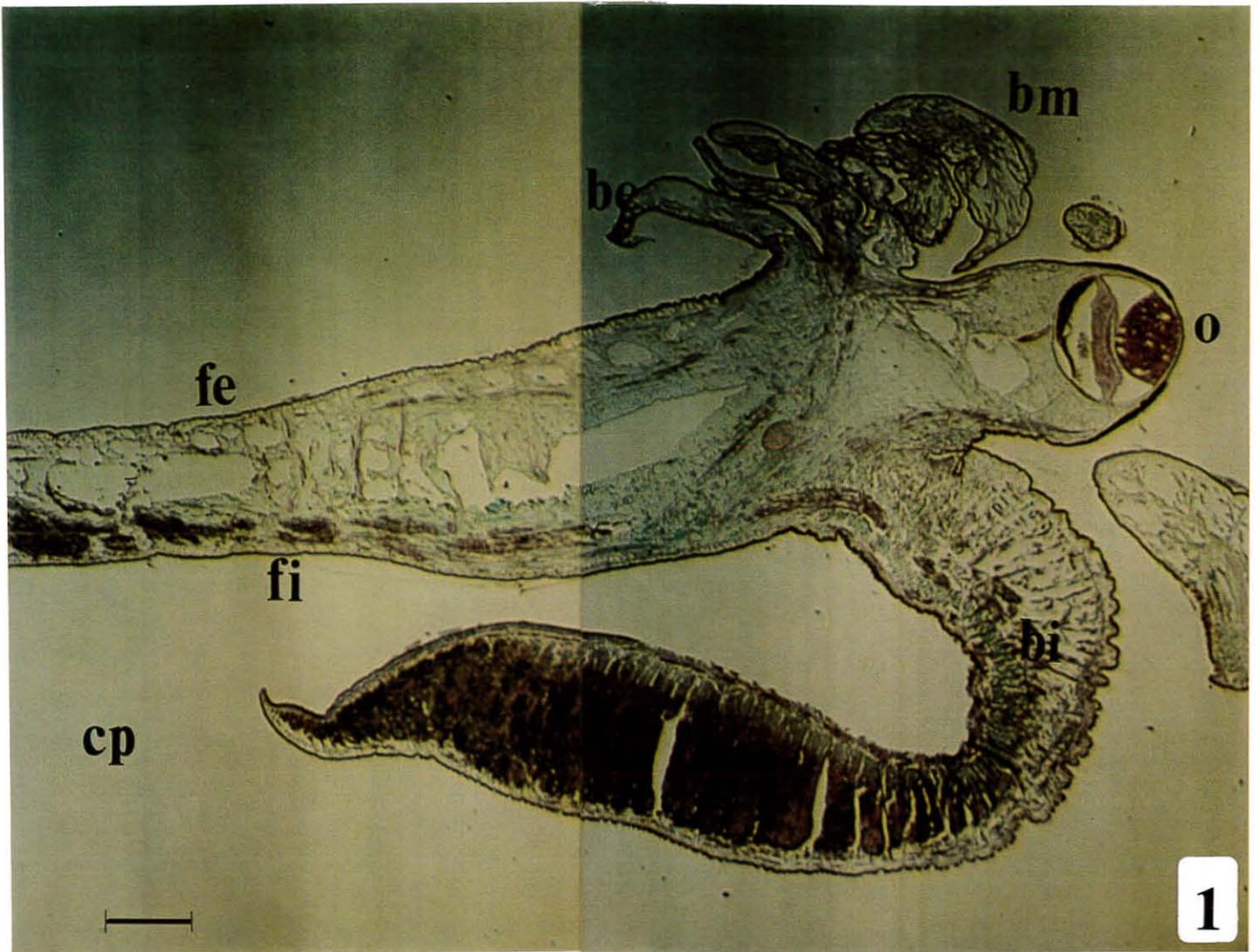


Planche 17

La face interne du manteau.

1. Coupe transversale de la face externe du manteau en regard avec la cavité palléale (cp).
Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.
2. Les cellules mélanisées de l'épithélium interne du manteau.
Coloration trichrome de Masson, échelle 10µm.
3. Cellule ciliée (c) de l'épithélium interne du manteau.
Coloration trichrome de Masson, échelle 10µm.

c : cils apicaux.
cp : cavité palléale.
fm : fibres musculaires.
m : mélanine.
mu : cellules à mucus.
n : noyau.

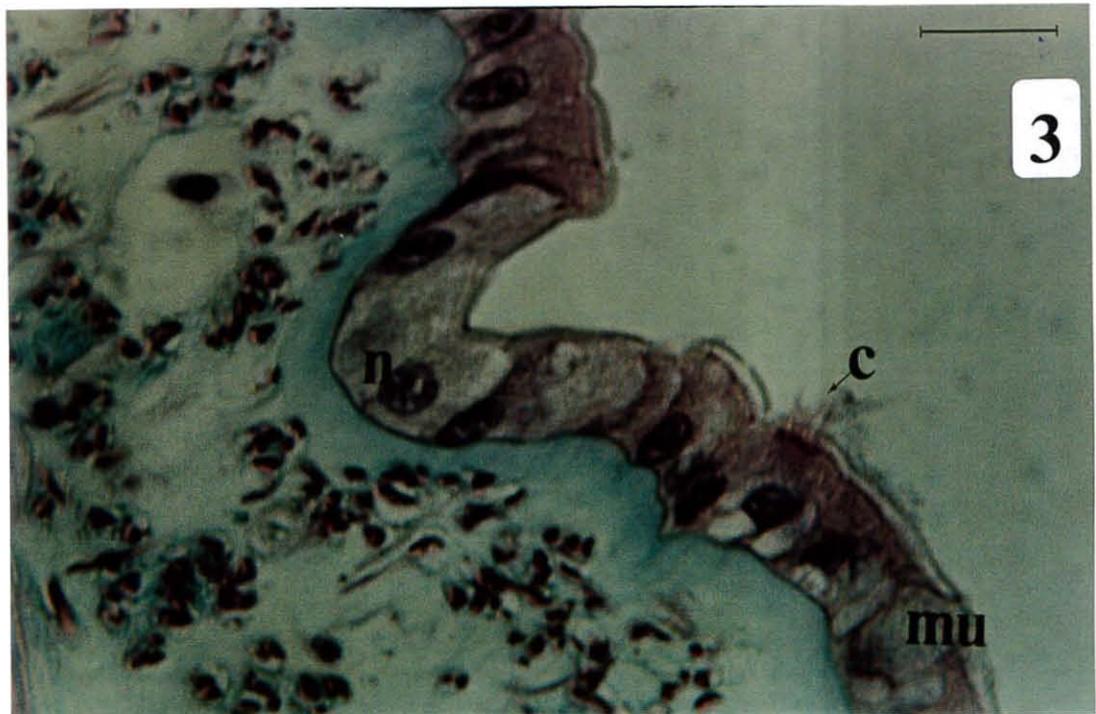
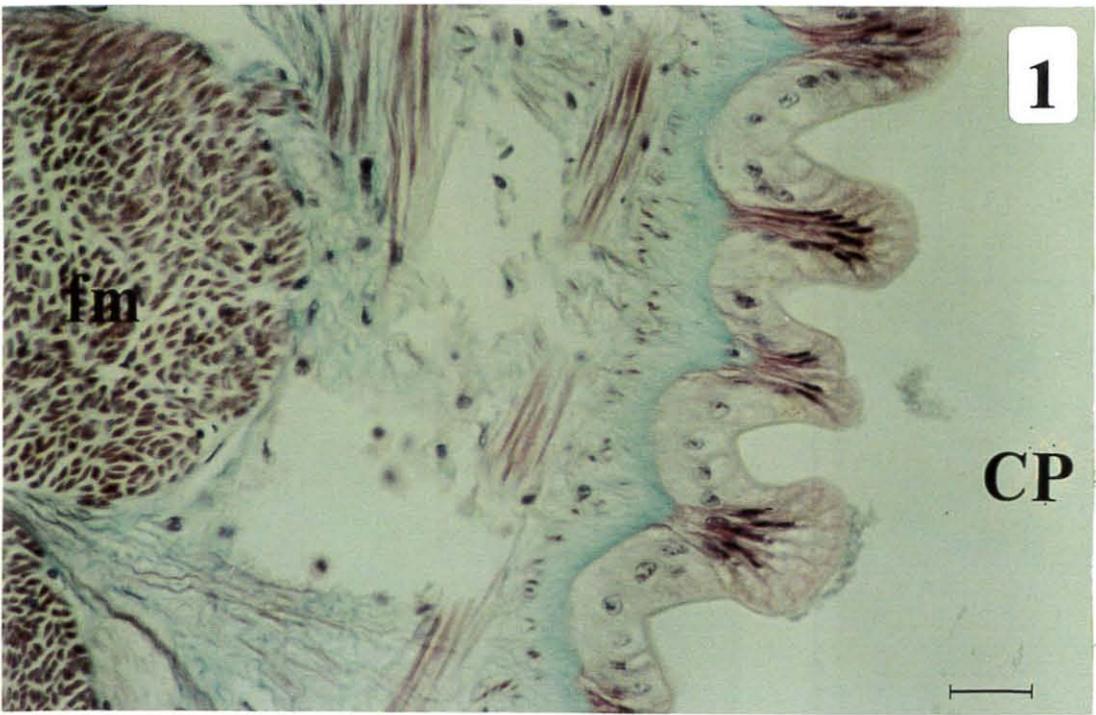


Planche 18

Le bourrelet interne

1 et 2. Coupes transversales du bord du bourrelet externe (1. face interne et 2. face externe). L'épithélium est fortement mélanisé (em), parsemé de cellules à mucus (m). Le tissu conjonctif sous-jacent est traversé par des faisceaux musculaires longitudinaux (fml) et transversaux (fmt). La lame basale (lb) est très épaisse.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20 μ m.

3. Les mélanocytes de l'épithélium, à noyau basal (n) et à la partie apicale remplie de grains de mélanine.

Coloration trichrome de Masson, échelle 10 μ m.

em : épithélium mélanisé.
fml : fibres musculaires fongitodinales.
fmt : fibres musculaires transversales.
gm : grains de mélanine.
lb : lame basale.
m : mucocyte.

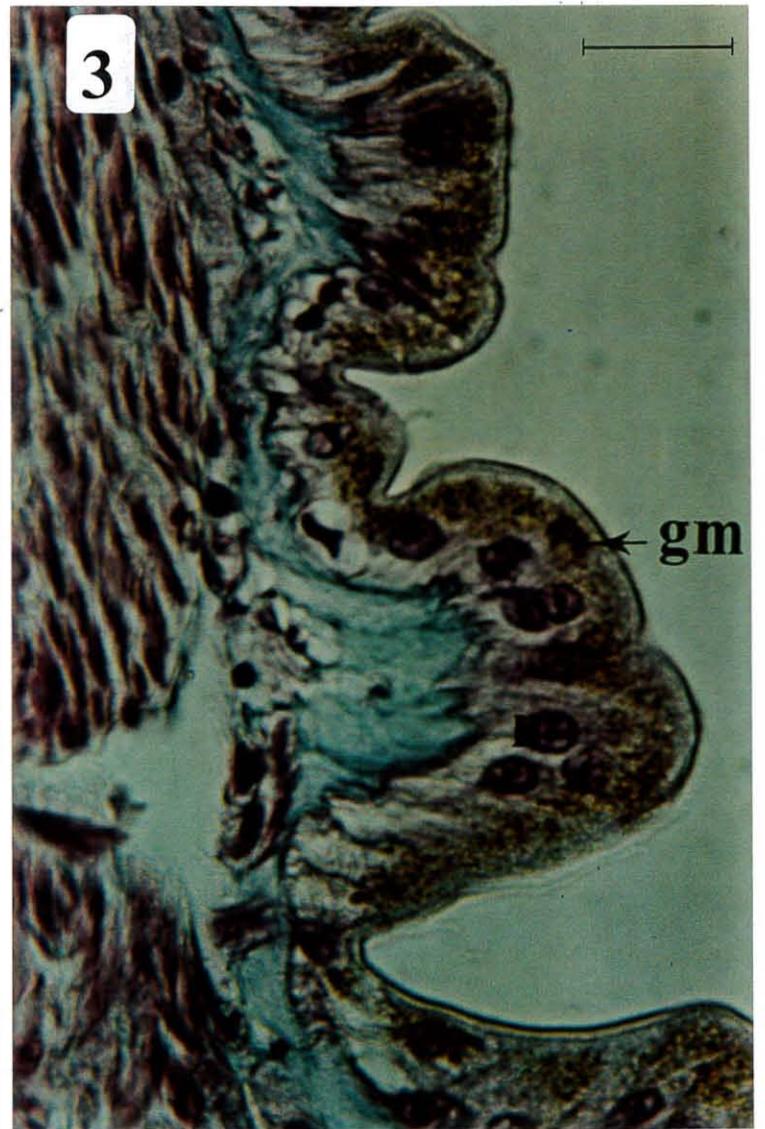
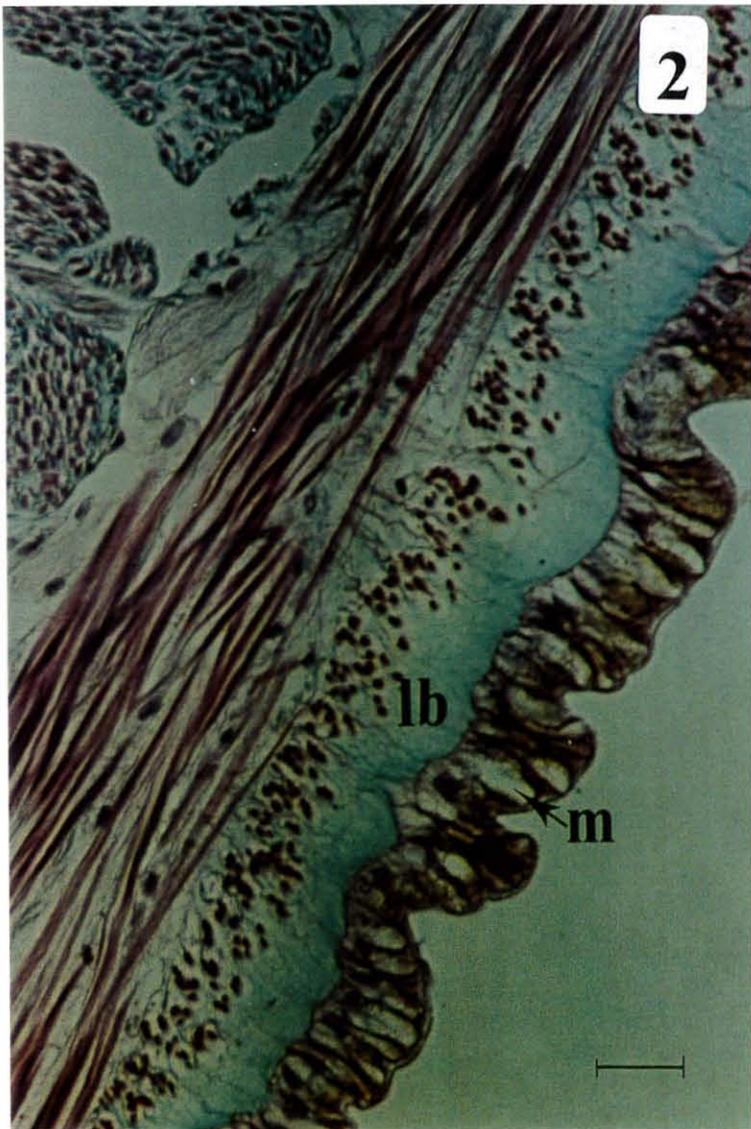
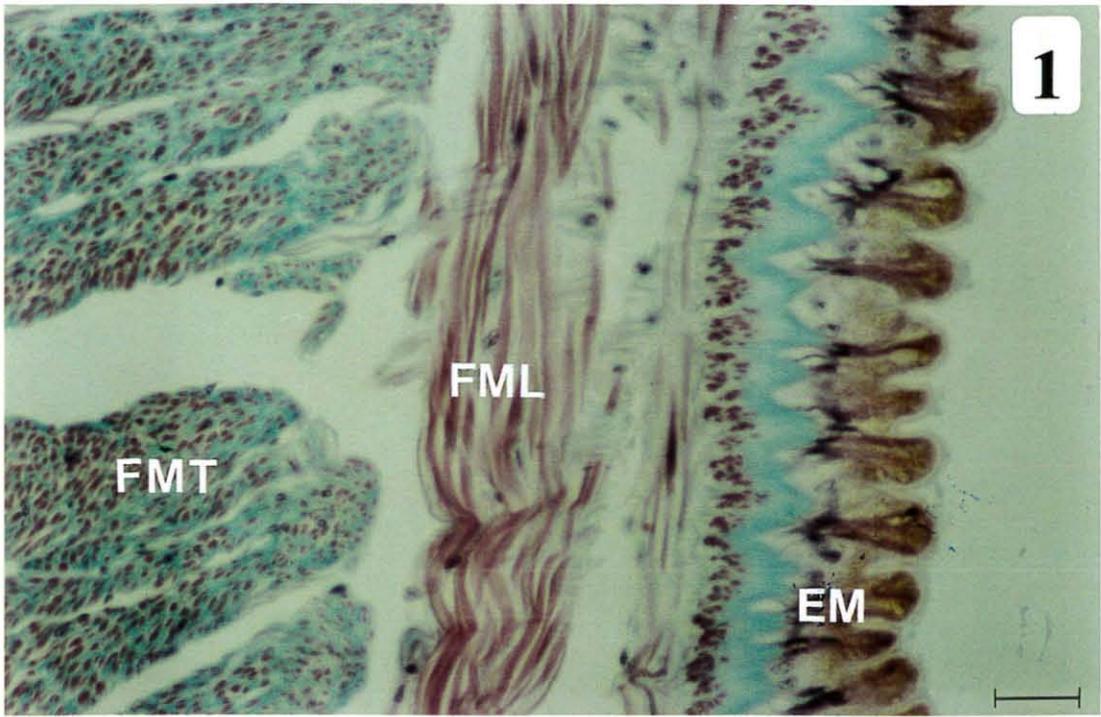


Planche 19

Le bourrelet médian.

1. Coupe longitudinale d'un tentacule tactile, passant par l'axe nerveux central (fn).
Coloration trichrome de Masson, échelle 100 μ m.
2. Coupe transversale d'un oeil.
Coloration trichrome de Masson, échelle 200 μ m.
3. Epithélium de l'extrémité d'un tentacule, recouvert de mucus (m). Ses cellules sont très peu mélanisées. On note par ailleurs la présence de nombreux mucocytes et de cellules sécrétrices (cs) de granules de polysaccharides (gs).
Coloration trichrome de Masson, échelle 10 μ m.
4. Epithélia du bourrelet médian, mélanisé et non-mélanisé.
Coloration trichrome de Masson, échelle 20 μ m.

cs : cellule sécrétrice de granules polysaccharidiques.
em : épithélium mélanisé.
fm : fibres musculaires.
fn : faisceau nerveux.
gp : granules de polysaccharides
m : mucus,
mu : mucocytes,
tt : tentacule tactile.
→ : exocitose de granules polysaccharidiques.

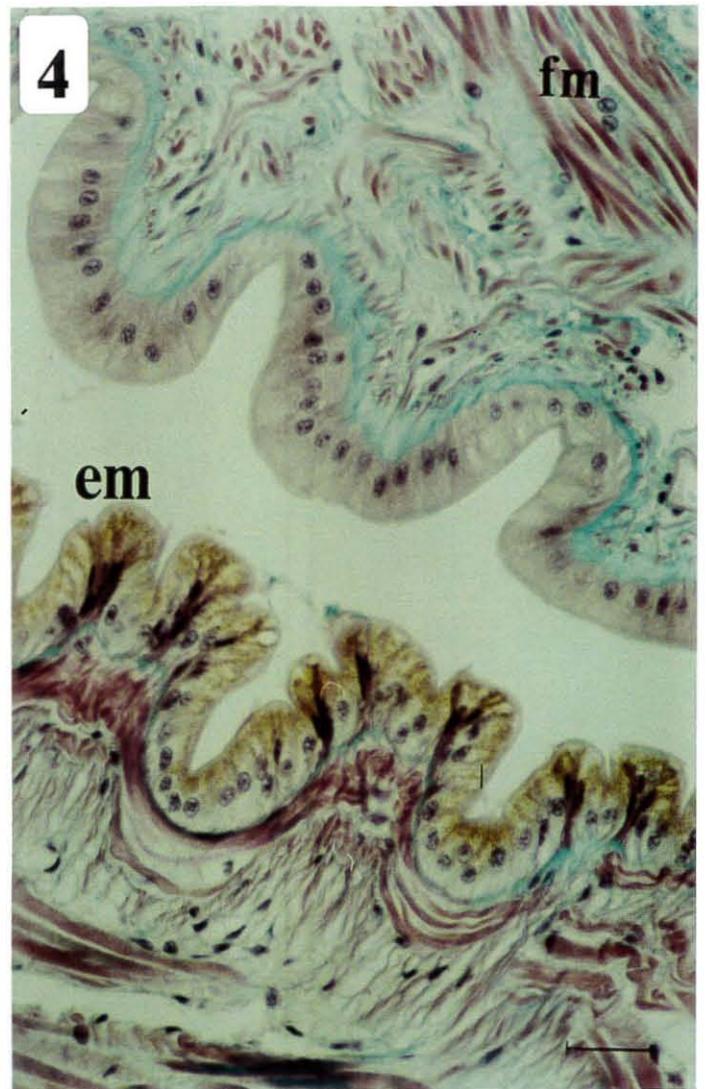
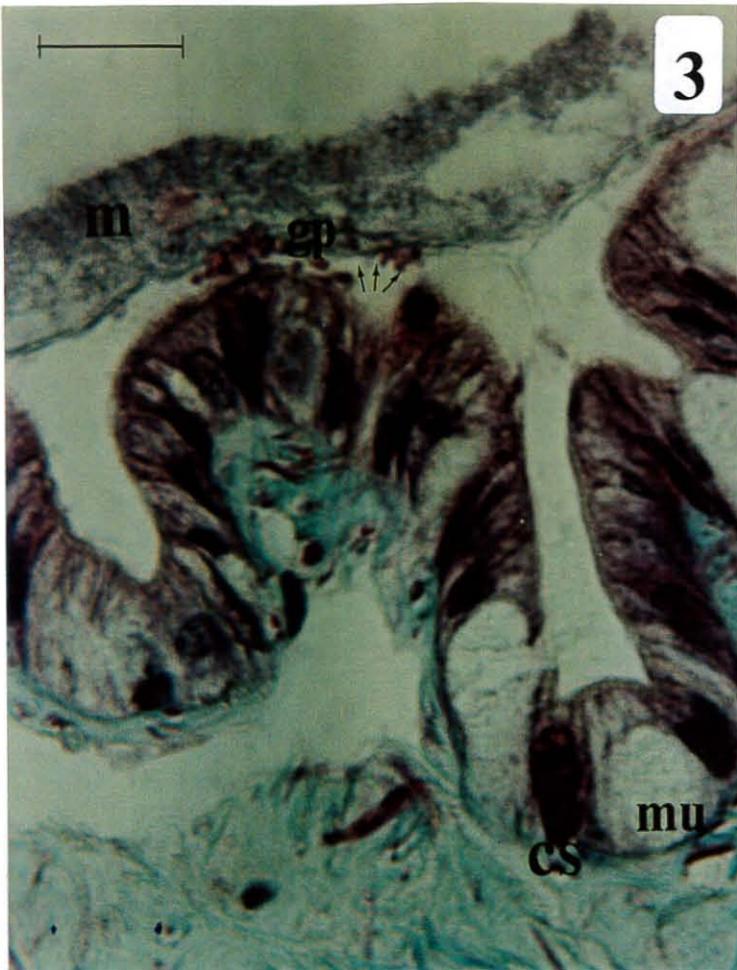
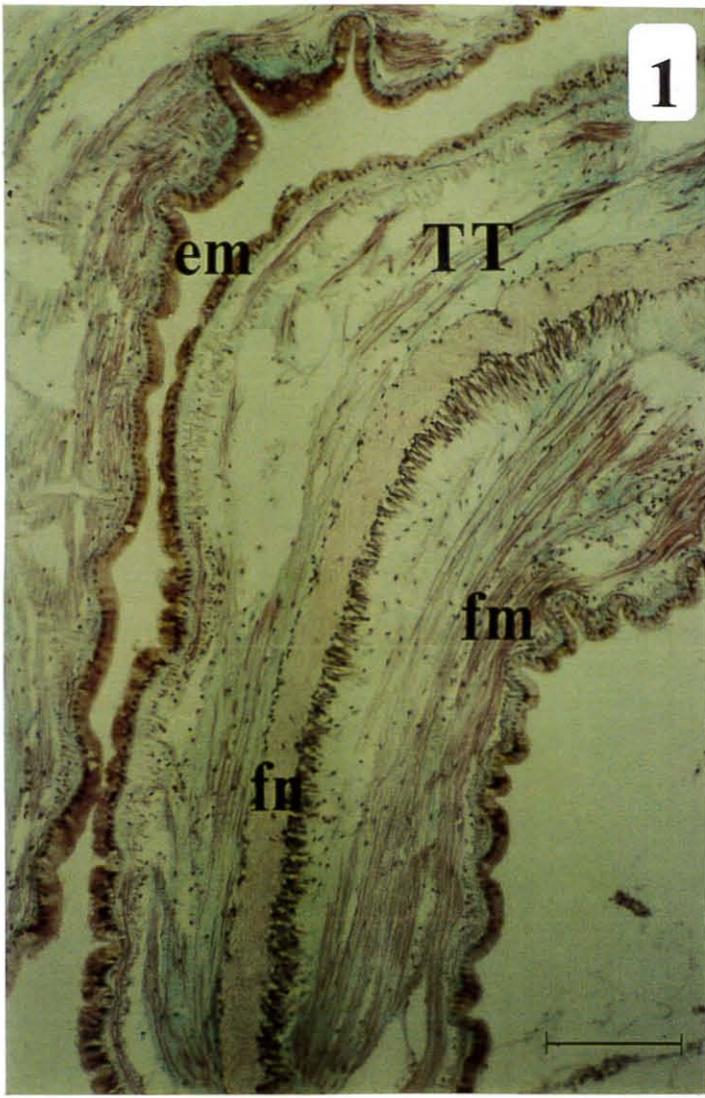


Planche 20

Le sillon périostracal.

1. Coupe transversale du sillon périostracal (sp), entre le bourrelet externe (be) et le lobe externe du bourrelet médian (bm). Le périostracum (→) naît au fond du sillon (o) puis s'épaissit des sécrétions de l'épithélium de l'expansion (e) du bourrelet médian, contre laquelle il est ici appliqué.

Coloration au bleu Alcyan, échelle 200µm.

2. Le fond du sillon périostracal. Le périostracum s'insinue entre deux amas cellulaires (ac). Des vésicules d'exocytose (ve) sont nettement distinctes sur sa face externe, et à l'extrémité des longs cils de l'épithélium du bourrelet médian (bm).

Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

3. L'ensemble du sillon périostracal (sp). Les deux épithélia qui le bordent sont très différents l'un de l'autre.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

ac : agglomérat cellulaire du bourrelet externe.

be : bourrelet externe.

bm : bourrelet médian.

e et ebm : expansion du lobe externe du bourrelet médian, recouvrant le sillon.

mu : mucocytes.

c : longs cils des cellules de l'épithélium du bourrelet médian.

o : origine du périostracum

p : périostracum.

ve : vacuoles d'exocytose.

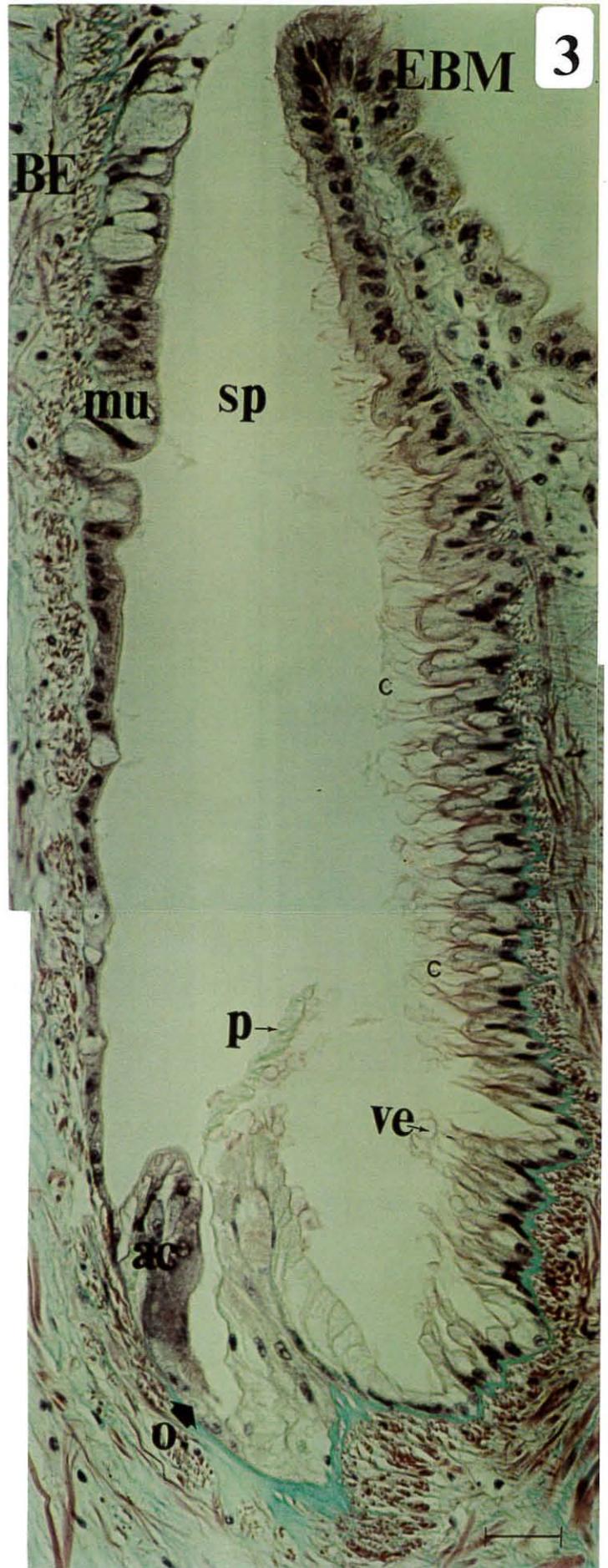
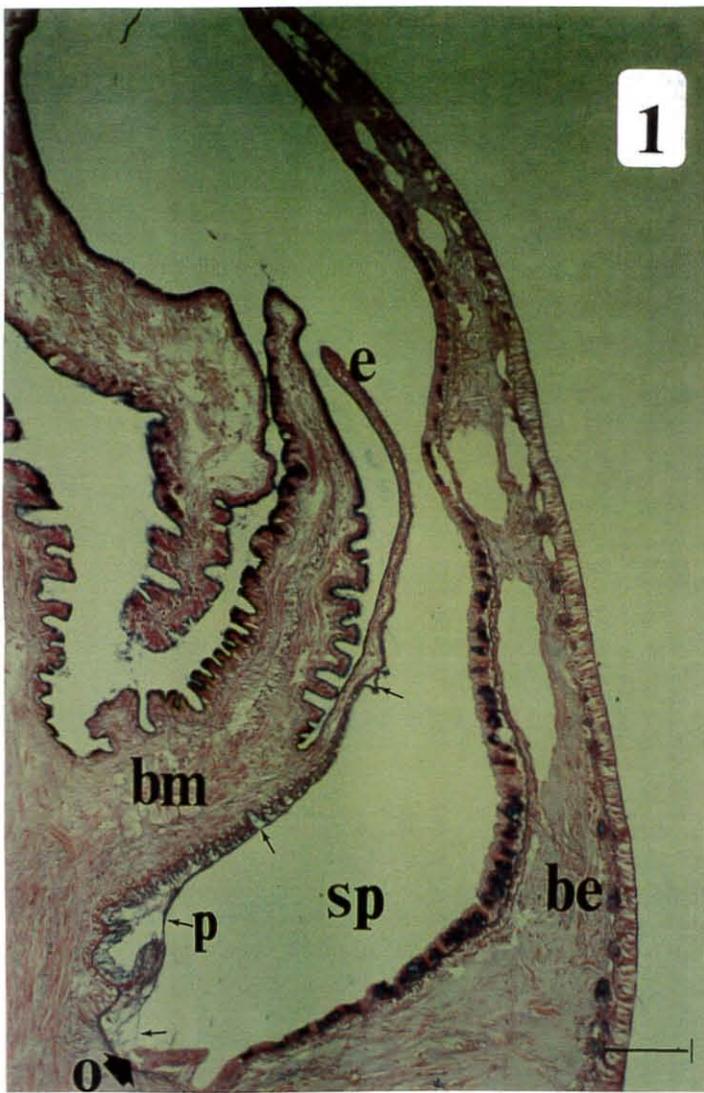


Planche 21

Les épithélia du sillon périostracal.

1. Epithélium de l'expansion du lobe externe du bourrelet médian (bm), formé de cellules hautes, à noyau basal allongé (n), et à l'extrémité apicale couverte de longs cils (c), et de vacuoles d'exocytose (ve).

Coloration trichrome de Masson, échelle 10 μ m.

2 et 3. Epithélium du bourrelet externe, formé de petite cellules cubiques à noyau basal (n), vers la base du sillon, et de cellules plus hautes, aux fonctions diversifiées, lorsqu'on se dirige vers le bord du bourrelet : des mucocytes (mu), des cellules à vésicules de polysaccharides (vs).

Coloration trichrome de Masson, échelle 10 μ m.

bm : bourrelet médian.

hé : hémocytes.

mu : vésicule de mucus.

c : cils.

n : noyau.

vs : vésicule de sécrétion de polysaccharides.

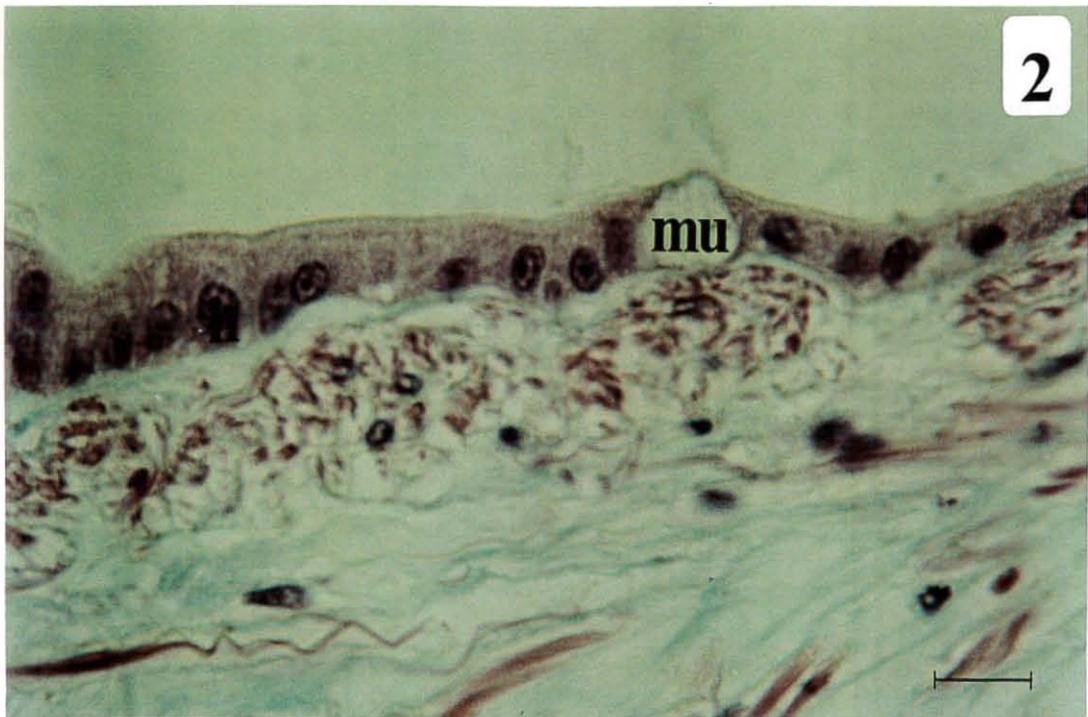
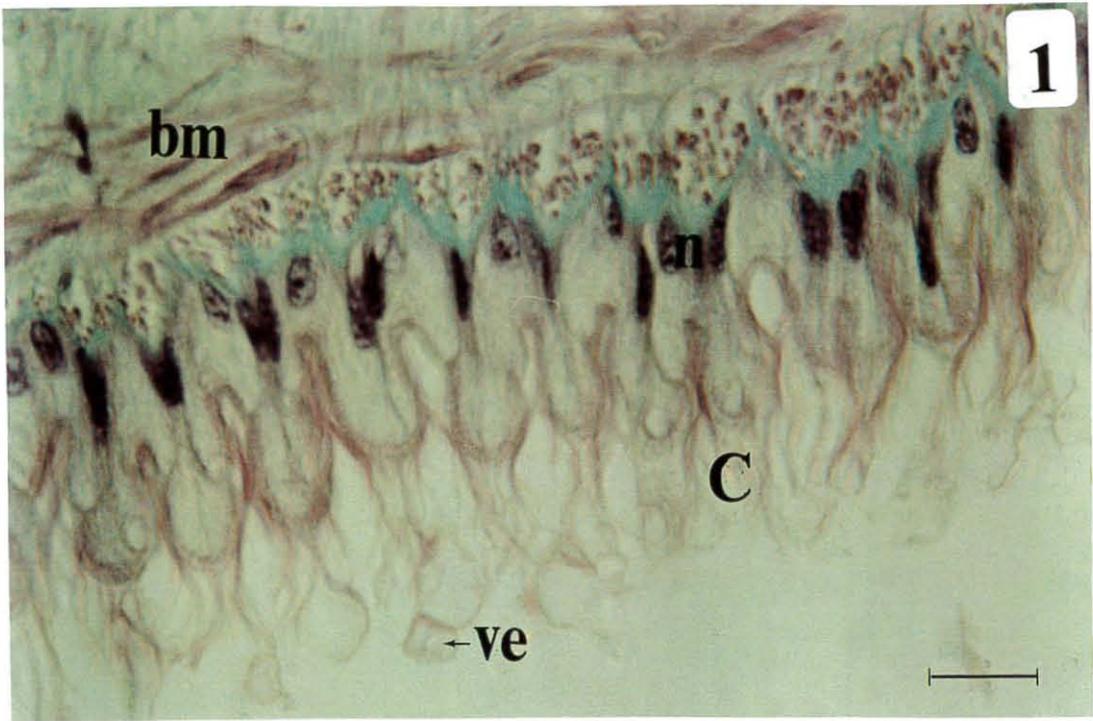


Planche 22

Le sillon périostracal et le périostracum.

1. Le fond du sillon périostracal (sp). Le périostracum semble être issu d'un repli (o) dans un amas cellulaire (ac) du bourrelet externe (be). Sur cette coupe, il se plaque ensuite sur l'épithélium du bourrelet médian (bm), qui l'épaissit de ses sécrétions acides (bleutées).
Coloration au bleu Alcyan, échelle 50µm.

2. L'épithélium du bourrelet externe, très riche en mucocytes (mu).
Coloration au bleu Alcyan, échelle 20µm.

3. Le périostracum (p) au milieu du sillon périostracal (sp), entre les deux épithélia du bourrelet externe et du bourrelet médian : il est fin et translucide, et semble formé d'une seule couche. On distingue dans l'épithélium du be des cellules à vésicules de sécrétions polysaccharidiques, fortement colorées en rose par l'APS, et des mucocytes, à vésicule de sécrétion plus claire. L'épithélium du bm ne présente aucune cellule de ce type.
Coloration à l'acide periodique de Schiff (APS), échelle 20µm.

4 et 5. Le fond du sillon périostracal. Le périostracum (p) a son origine entre les cellules des deux bourrelets, externe et médian.
Coloration trichrome de Masson, échelles 20 et 10µm.

ac : amas cellulaire.
be : bourrelet externe.
bm : bourrelet médian.
cbe : cellules du bourrelet externe.
cbm : cellules du bourrelet médian.
mu : mucocytes.
p : périostracum.
sp : sillon périostracal.

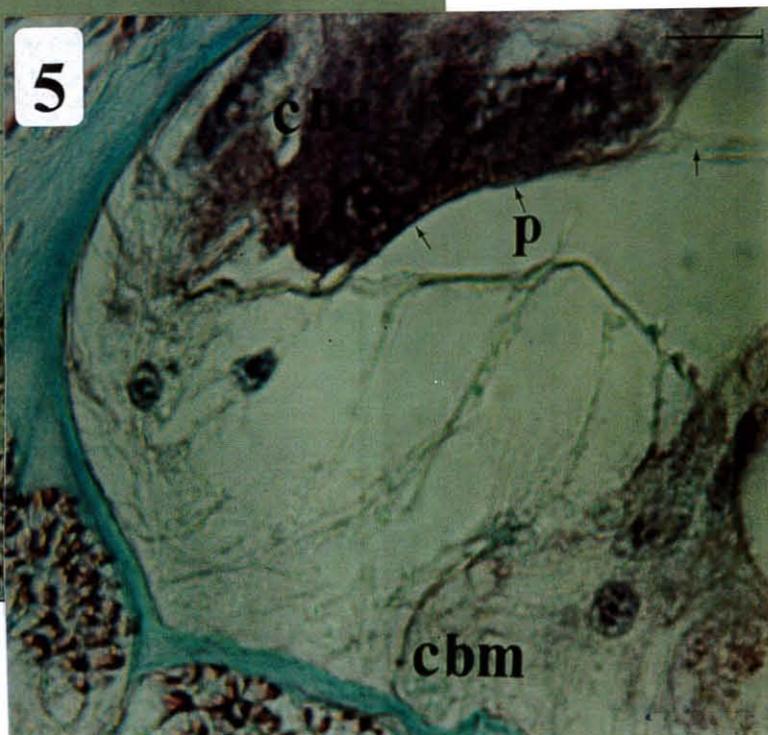
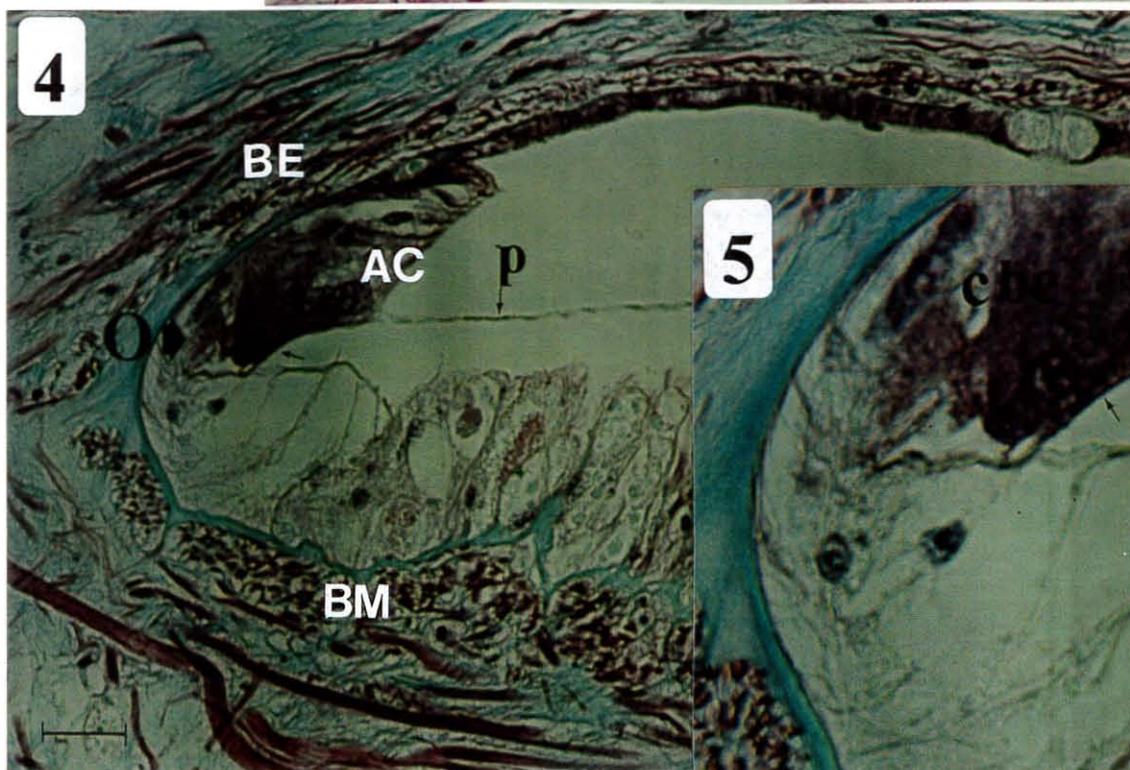
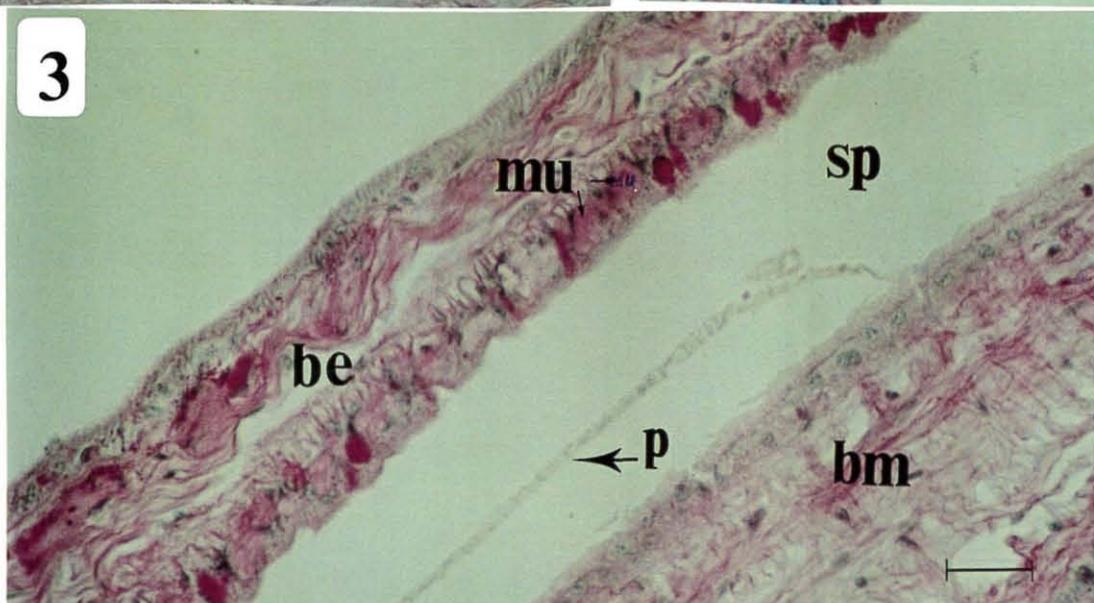
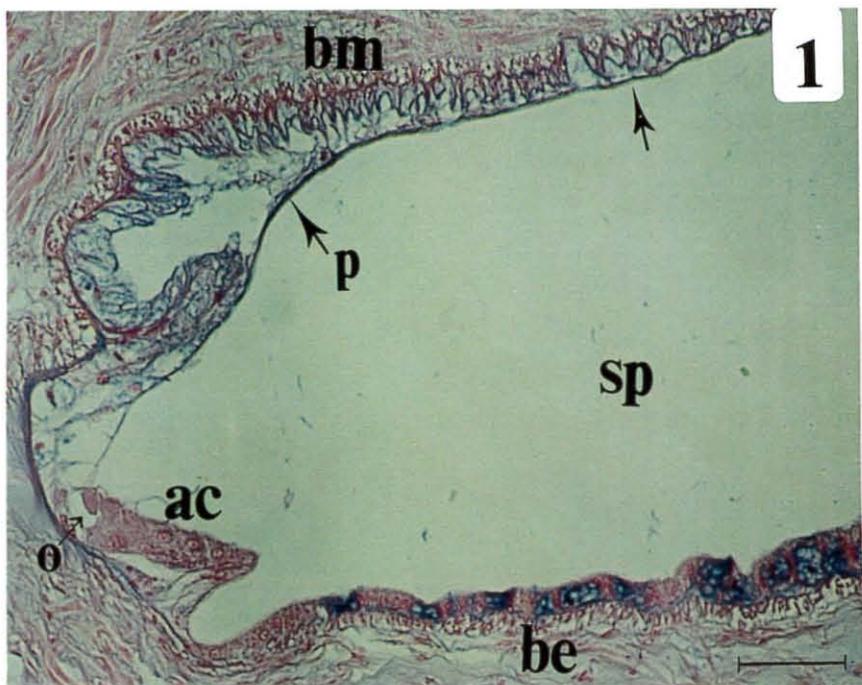


Planche 23

Le bourrelet externe

1. Coupe transversale au bord du bourrelet externe. L'épithélium interne (ei) est très riche en mucocytes et en cellules de sécrétions. l'épithélium externe (ee) synthétisant la coquille est formé de cellules hautes et minces.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

2,3 et 4. L'épithélium externe, formé de cellules très hautes près du bord palléal (2 et 4), resserrées, à noyau basal allongé (n) et bordure en brosse (↓), qui diminuent de hauteur vers la ligne palléale (3). Cet épithélium est parsemé de nombreux mucocytes (mu), souvent localisés un peu en profondeur, près de la lame basale.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20, 20 et 10µm.

5. Les polysaccharides dans l'épithélium externe. On peut distinguer 3 types cellulaires : les mucocytes (mu) à vésicules rose clair, les cellules à vésicules de sécrétion rose foncé (vs), et les cellules à noyau basal et à cytoplasme clair, avec quelques granules plus denses, rose foncé.

Coloration APS, échelle 10µm.

6. Les mucocytes à la base de l'épithélium externe.

Coloration au bleu Alcyan, échelle 20 µm

c : conjonctif.
ee : épithélium externe.
ei : épithélium interne.
mu : mucocyte.
n : noyau.
↓ : bordure en brosse.

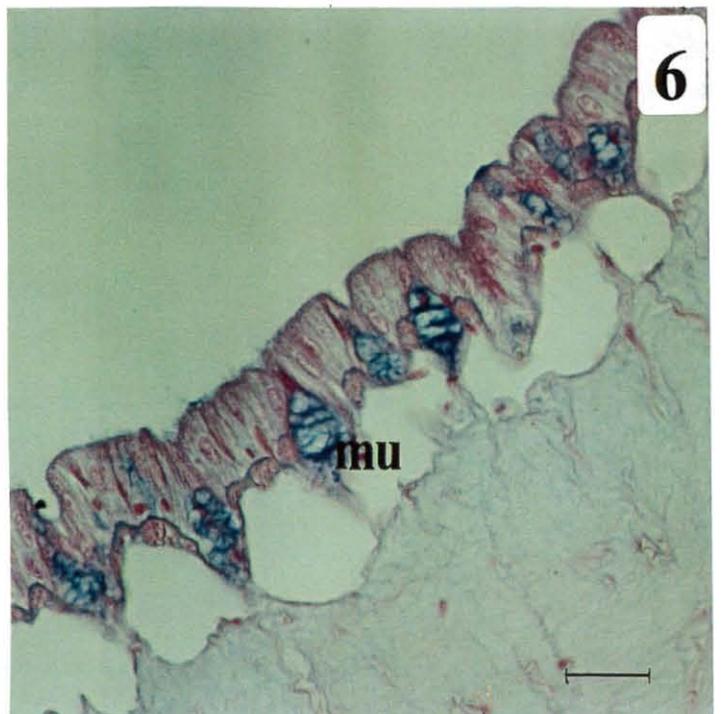
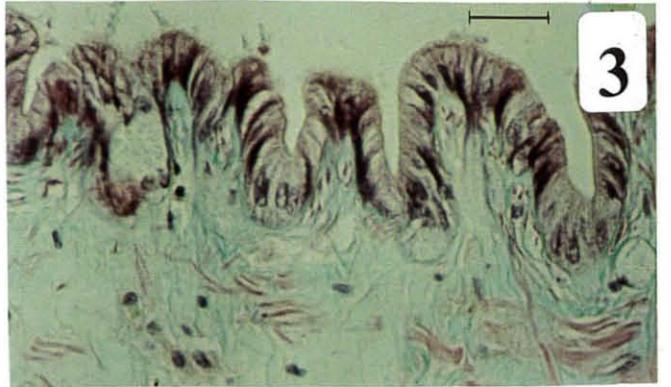
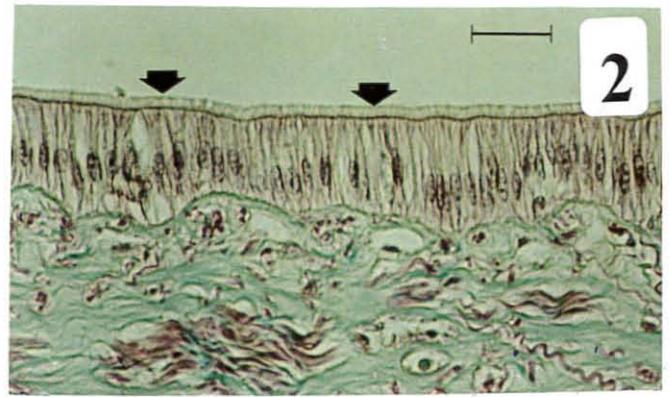
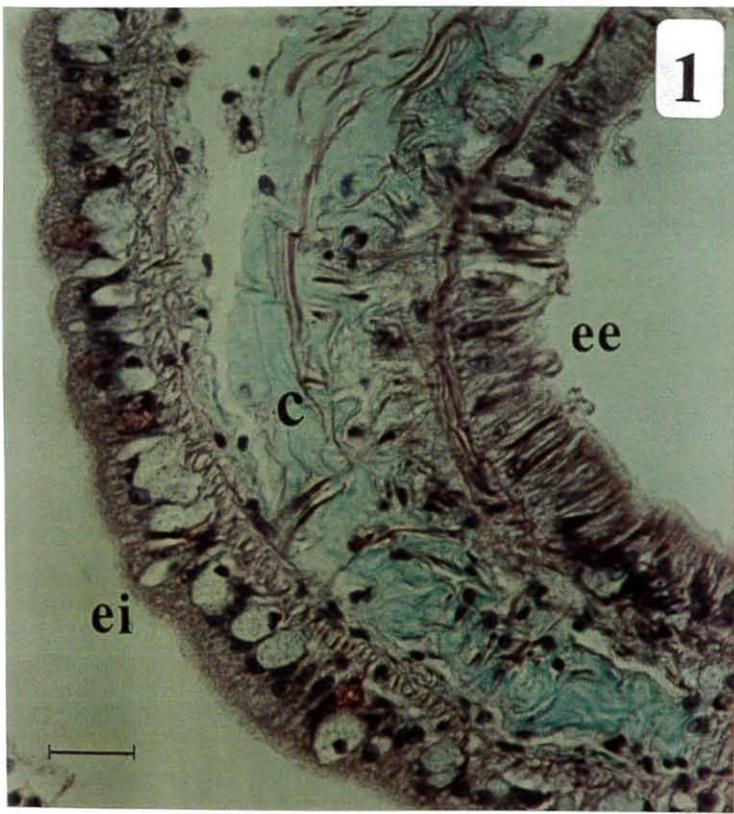


Planche 24

Les mélanines dans le manteau et dans la coquille

1. Coupe transversale dans la coquille d'une valve blanche. A la surface externe (E), on distingue les lames externes qui forment les microstries de la coquille. La couche externe (ce) est à peine pigmentée, et la couche interne (ci) ne l'est pas du tout.

Coloration de Lillie, échelle 20 μ m.

2. Détail des granules mélanisés à l'extrémité apicale des mélanocytes du bourrelet interne.

Coloration de Lillie. Echelle 20 μ m.

3. Coupe transversale de la couche interne mélanisée dans une valve brune.

Coloration de Lillie, échelle 20 μ m.

4. Coupe transversale dans un dépôt organique de type anneau brun déposé à la surface de la couche interne d'une valve de coquille Saint-Jacques de la Baie de Quiberon. De nombreux granules mélanisés sont inclus dans le dépôt, lui-même mélanisé.

Coloration de Lillie, échelle 20 μ m.

E : face externe de la coquille.

I : Face interne de la coquille.

le : lames externes.

ce : couche externe.

ci : couche interne.

me : mélanocytes du bourrelet interne.

m : mélanine.

cip : couche interne pigmentée.

gm : granules mélanisés.

d : dépôt organique mélanisé.

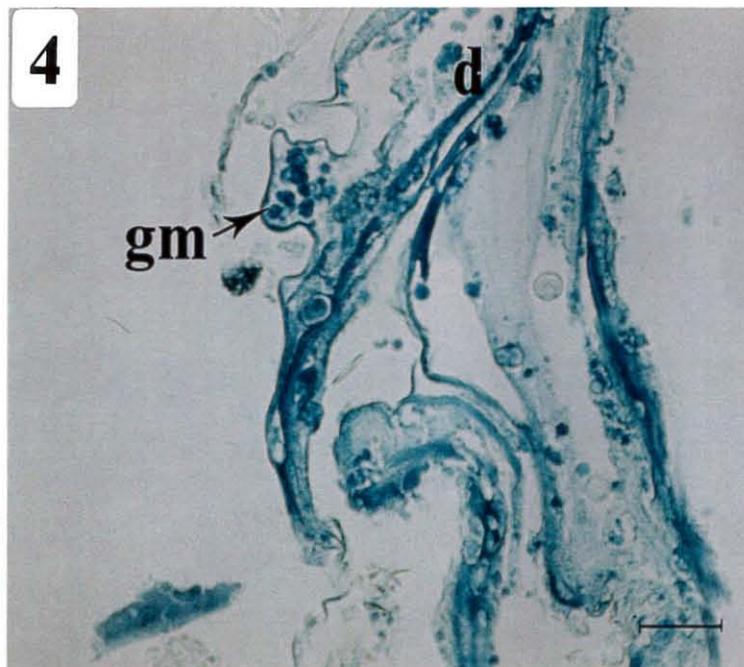
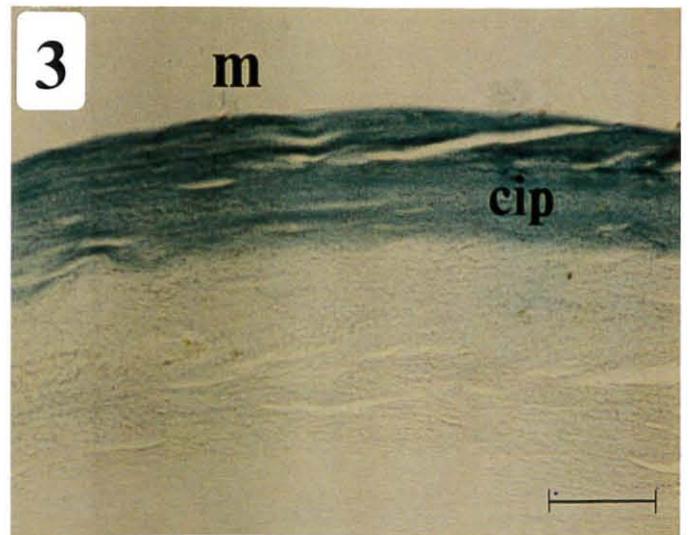
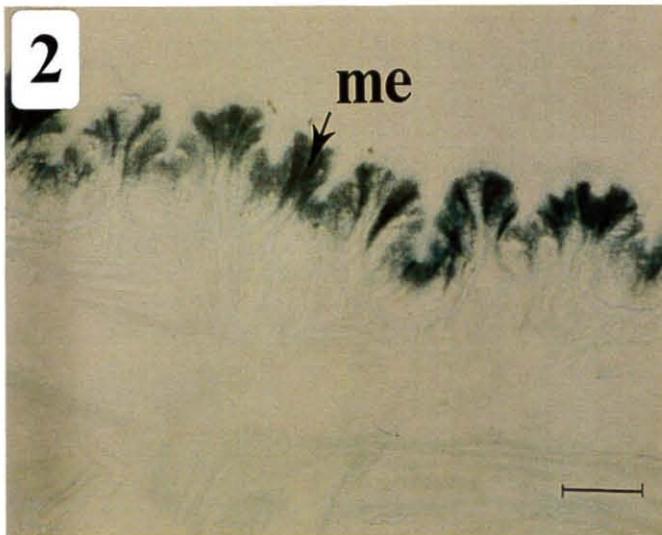
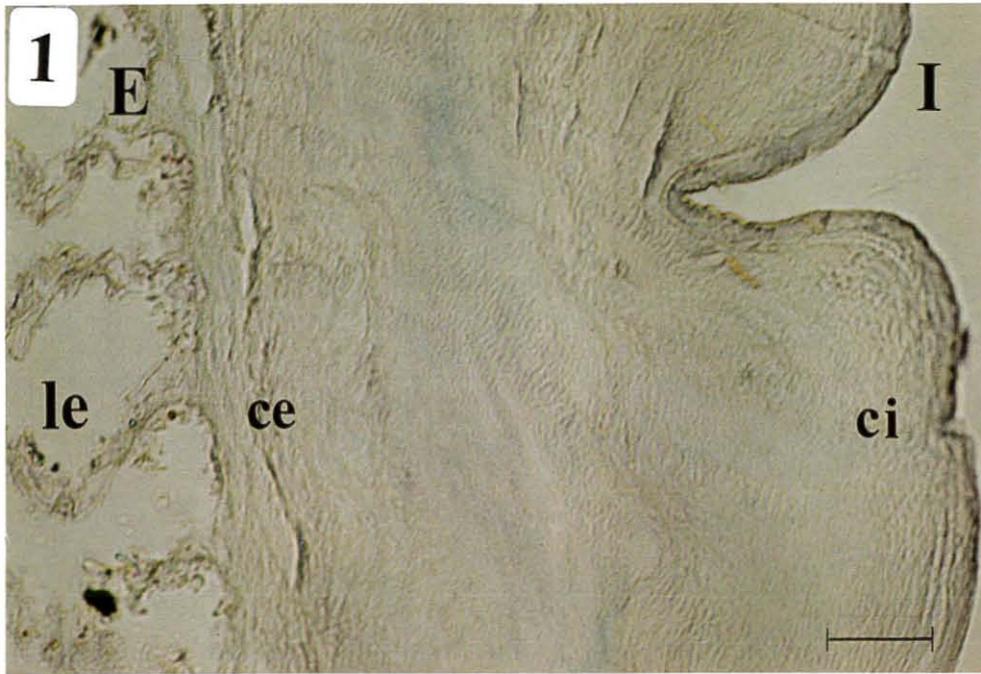


Planche 25

Les mélanines dans le manteau et dans la coquille.

1. Coupe transversale de la coquille (C) et du manteau (MA), non colorée. On distingue : la couche interne brune (ci) et la couche externe (ce) d'aspect granuleux de la coquille, le bourrelet externe (be), le sillon périostracal (sp), le périostracum (p), le bourrelet médian (bm) et son diverticule (d).

Pas de coloration, échelle 200µm.

2. Coupe transversale de la coquille et du manteau. Les mélanines (M) associées à la matrice coquillière de la couche interne et les mélanocytes du bourrelet médians sont fortement colorés en vert par la réaction de Lillie. Les épithélia du sillon périostracal et du bourrelet externe, ainsi que le périostracum ne sont absolument pas colorés, il ne contiennent donc pas de mélanines.

Coloration de Lillie, échelle 200µm.

be : bourrelet externe.

bm : bourrelet médian.

C : coquille

ce : couche externe de la coquille.

ci : couche interne de la coquille.

d : diverticule du bourrelet médian recouvrant le sillon périostracal.

M : mélanines.

MA : manteau.

sp : sillon périostacal.

→ : périostracum.

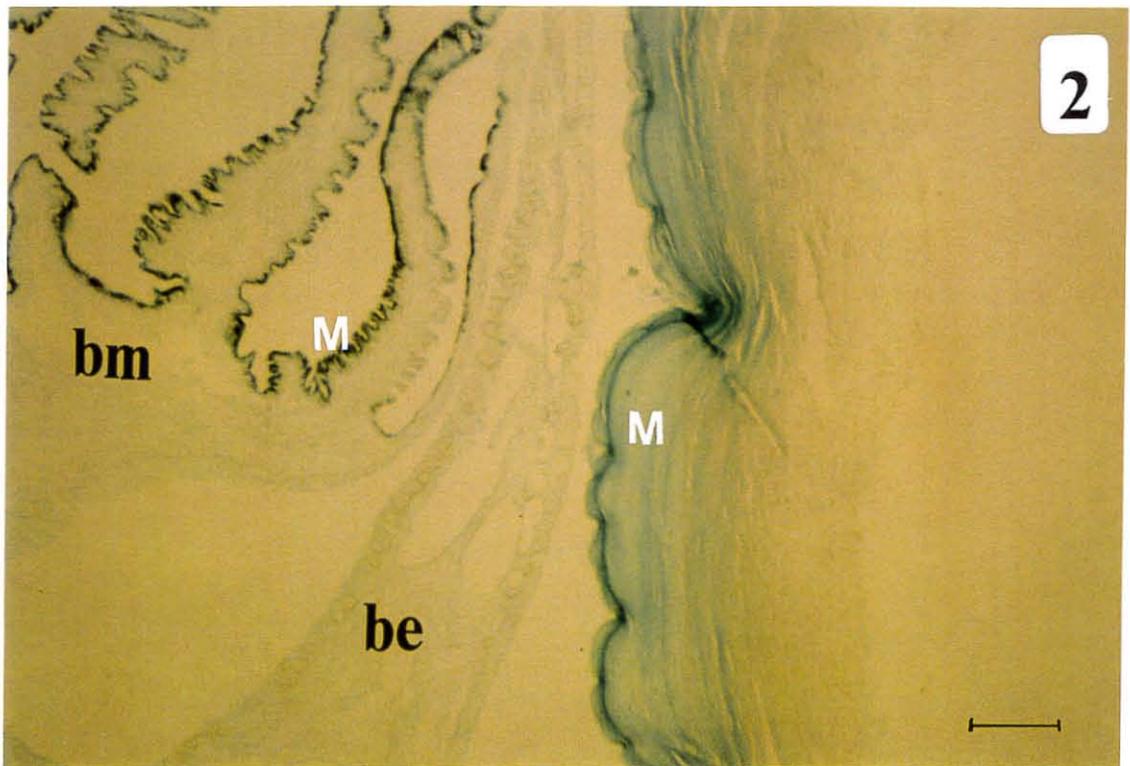
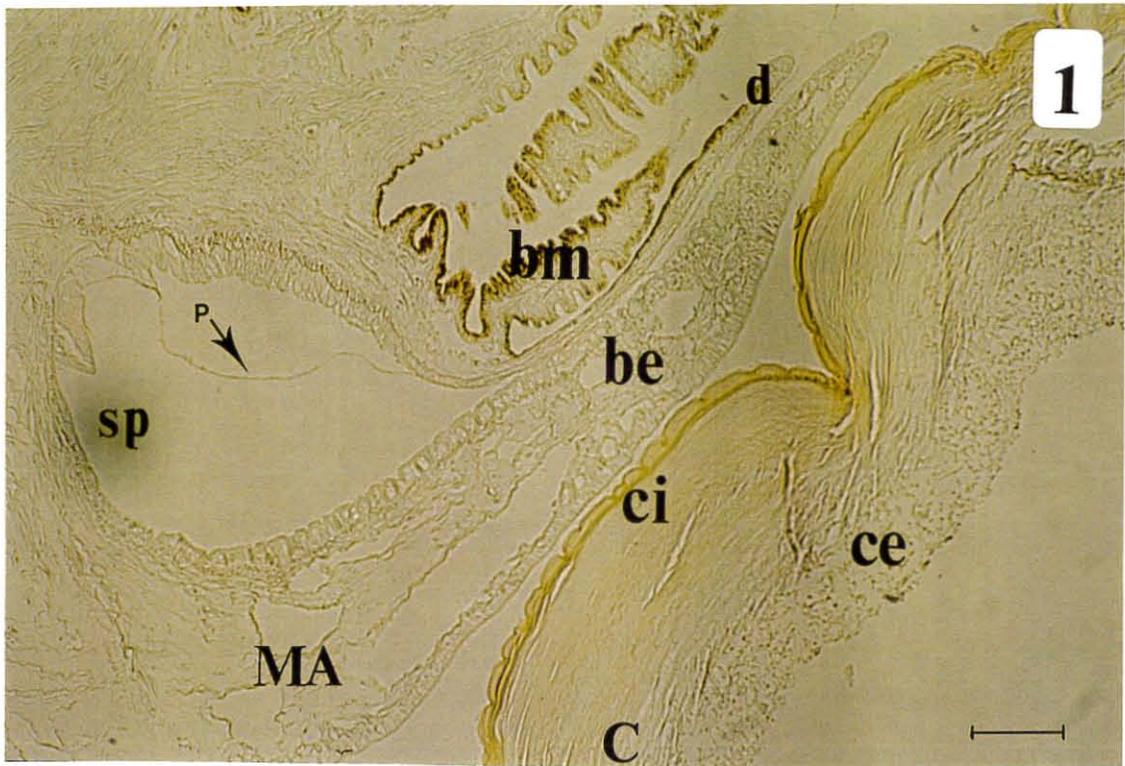


Planche 26

Les dépôts organiques de type anneau brun.

1 et 2. Coupe transversale de l'anneau brun et de la coquille sous jacente, décalcifiée. La structure des deux ensembles est très différente : le dépôt (d) est formé de lames parallèles à la surface des valves, intensément colorées, la matrice coquillière (mc) est homogène et très peu colorées.

Coloration trichrome de Masson, échelle 100 et 20 μ m.

3. Organisation des lames constituant les dépôts.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20 μ m.

4. Coupe transversale d'un dépôt organique granuleux recouvert (d), intégré entre deux couches coquillières (cm) dans une valve brune.

Coloration trichrome de Masson, échelle 10 μ m.

E : face externe de la coquille.

I : Face interne de la coquille.

mc : matrice coquillière.

d : dépôt organique mélanisé.

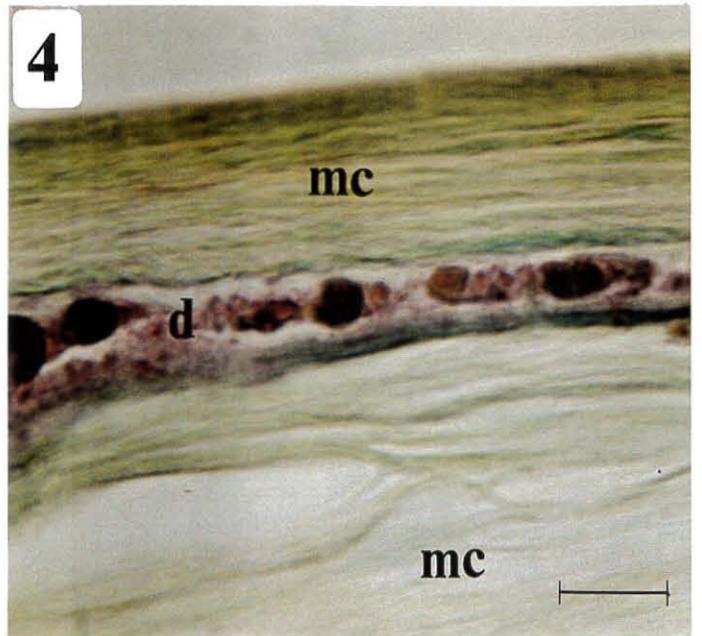
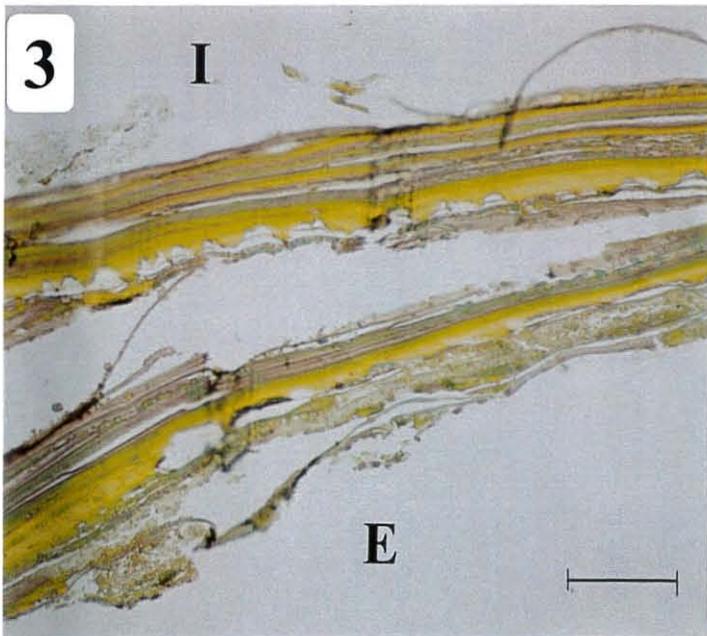
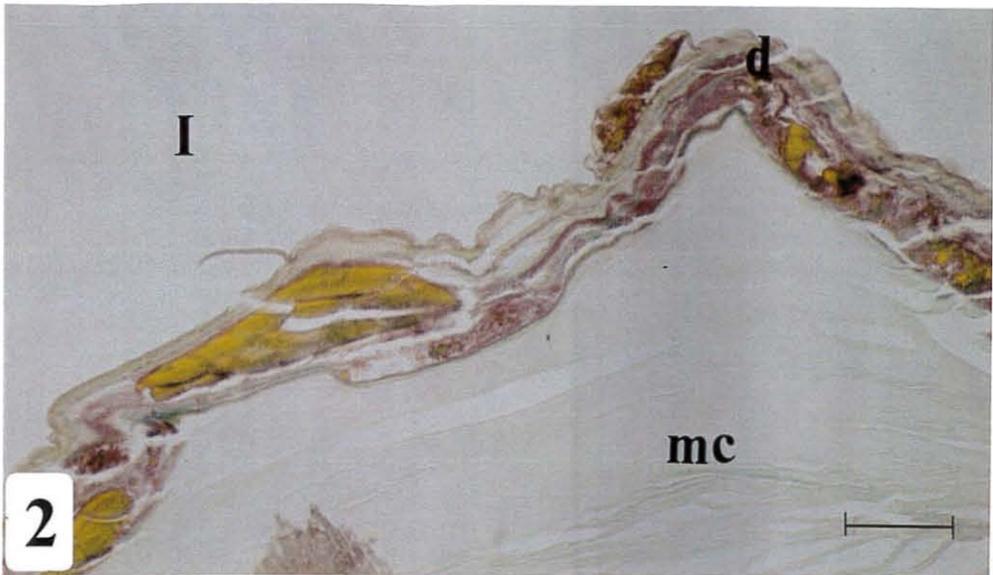
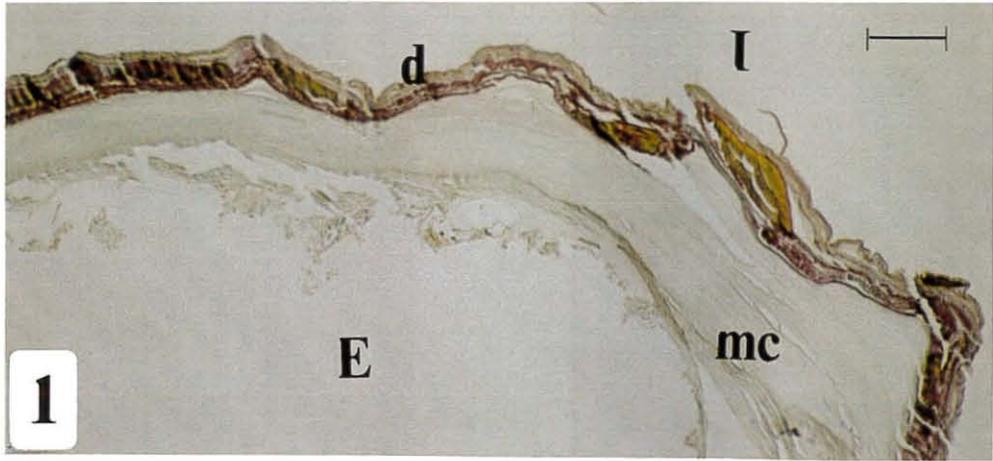


Planche 27

L'épithélium externe du manteau en contact avec les dépôts organiques

1. Coupe transversale de l'épithélium externe du manteau (eh), en contact immédiat avec un dépôt organique (d). Cet épithélium est fortement plissé et les cellules sont hyperplasiées.
Coloration trichrome de Masson, échelle 100µm.
2. Détail des cellules hyperplasiées (eh) montrant une forte activité d'exocytose (→), juste sous une pellicule organique (d) remplies de granules mélanisés (gm). (Voir planche 23 3, cliché de l'épithélium normal au même grossissement).
Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.
3. Inflammation de l'épithélium : infiltration hémocytaire (h), de l'assise sous épithéliale.
Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

d : dépôt organique.
eh : épithélium hyperplasié.
gm : granules mélanisés.
h : hémocytes.
→ : exocytose.

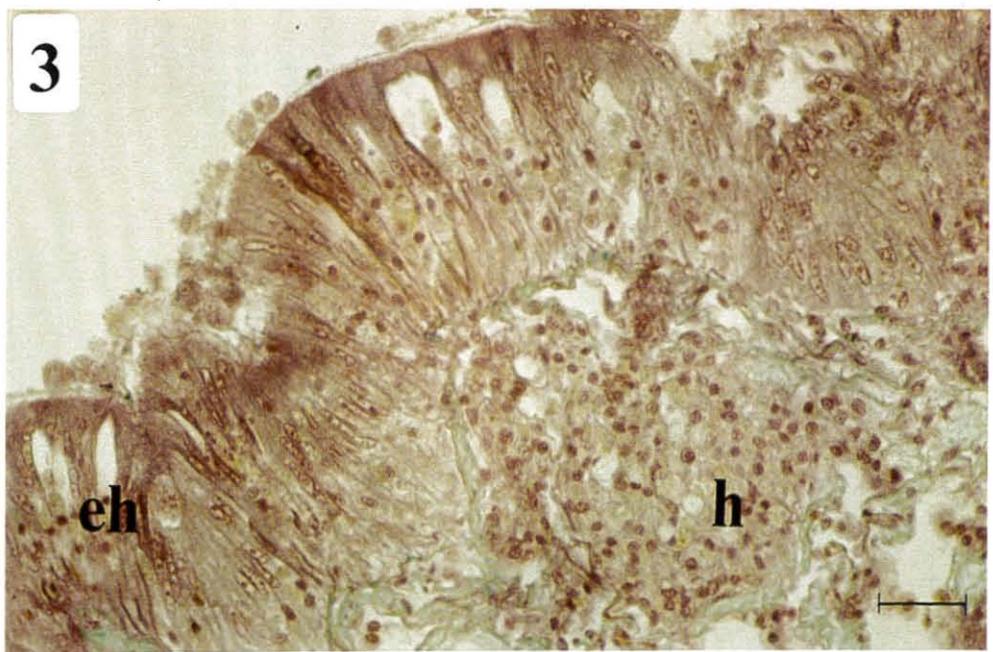
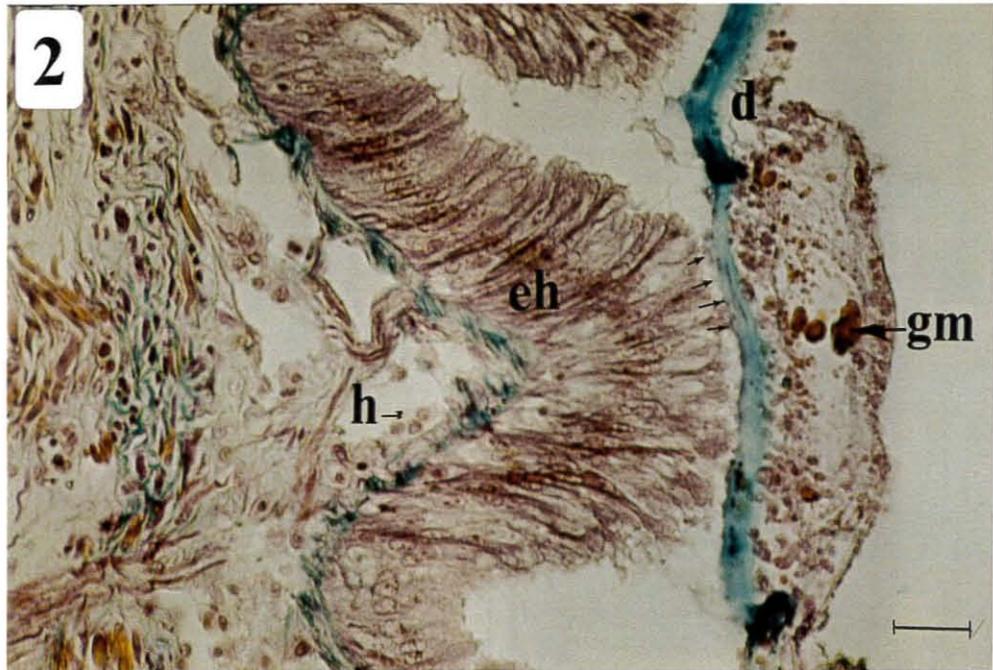
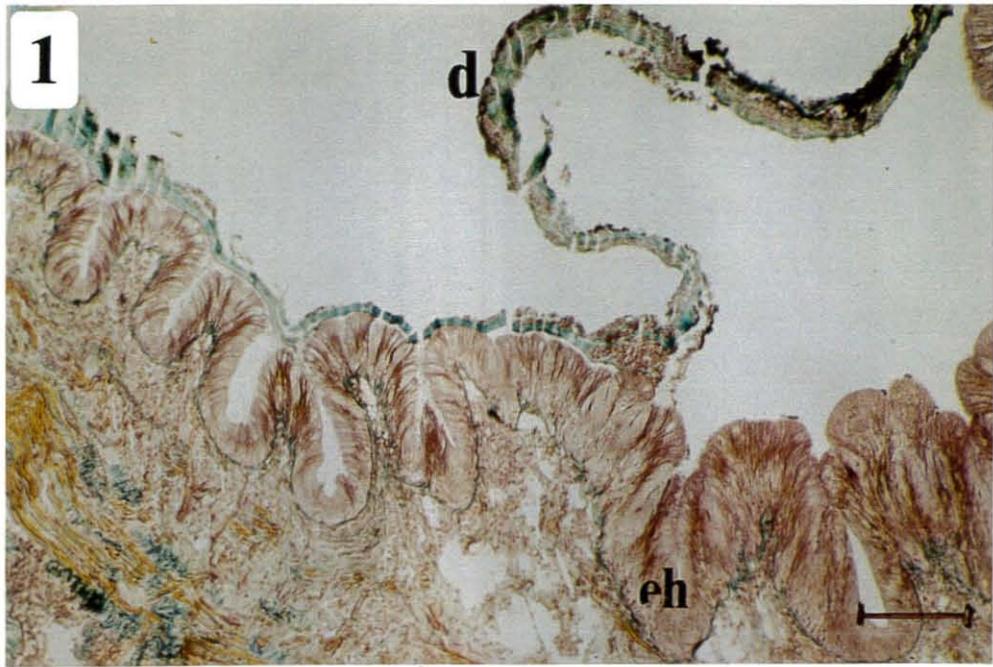


Planche 28

Les gonades des coquilles conditionnées en milieu toxique.

1. Agglomérats hémocytaires dans la partie femelle d'une gonade vide.

Coloration trichrome de Masson, échelle 50µm.

2. Figure de post-ponte. Les acini sont vides, il ne subsiste que quelques rares ovocytes (o), souvent immatures, et quelques ovogonies (og). Le corps dense (k) pourrait être un résidu nucléaire ou un kyste parasitaire.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

3. Acini partiellement vidés où subsistent de nombreux ovocytes immatures, encore accolés à la paroi.

Coloration trichrome de Masson, échelle 20µm.

h : hémocytes.

k : kyste parasitaire ou résidu nucléaire.

n : nucléole.

o : ovocyte.

og : ovogonie.

oi : ovocyte immature.

op : ovocyte pédonculé.

p : paroi d'un acinus.

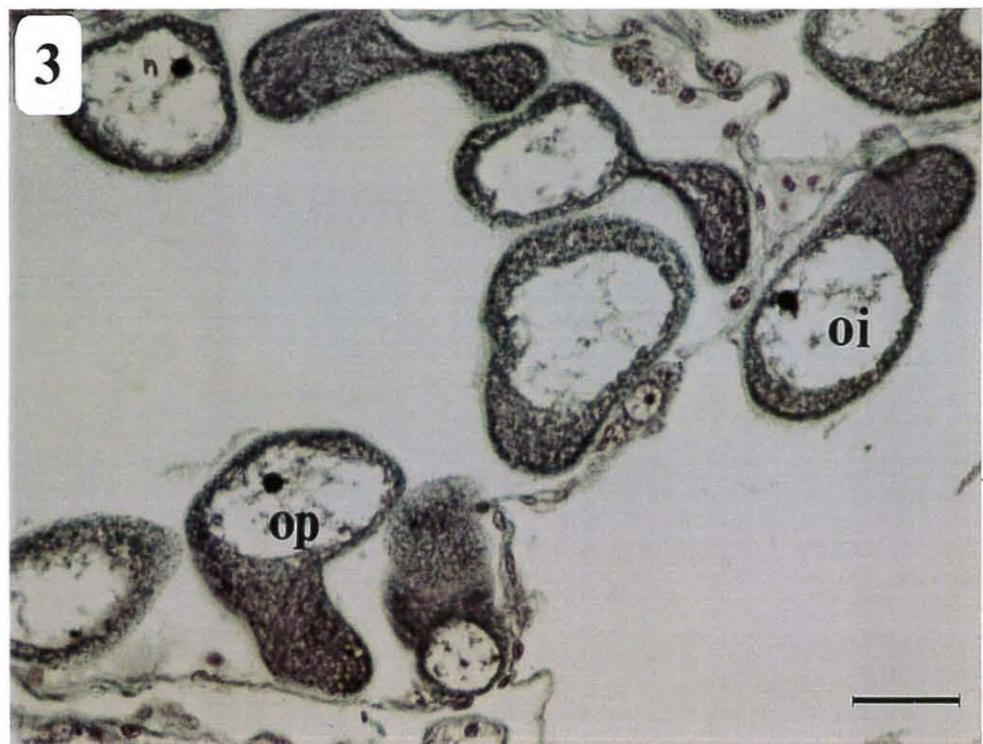
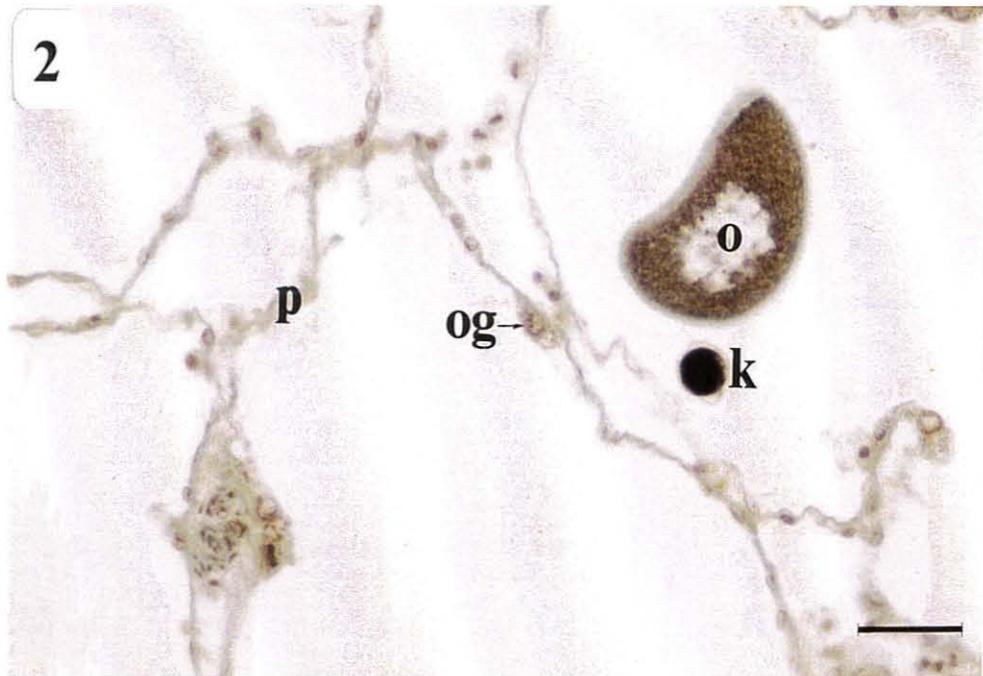
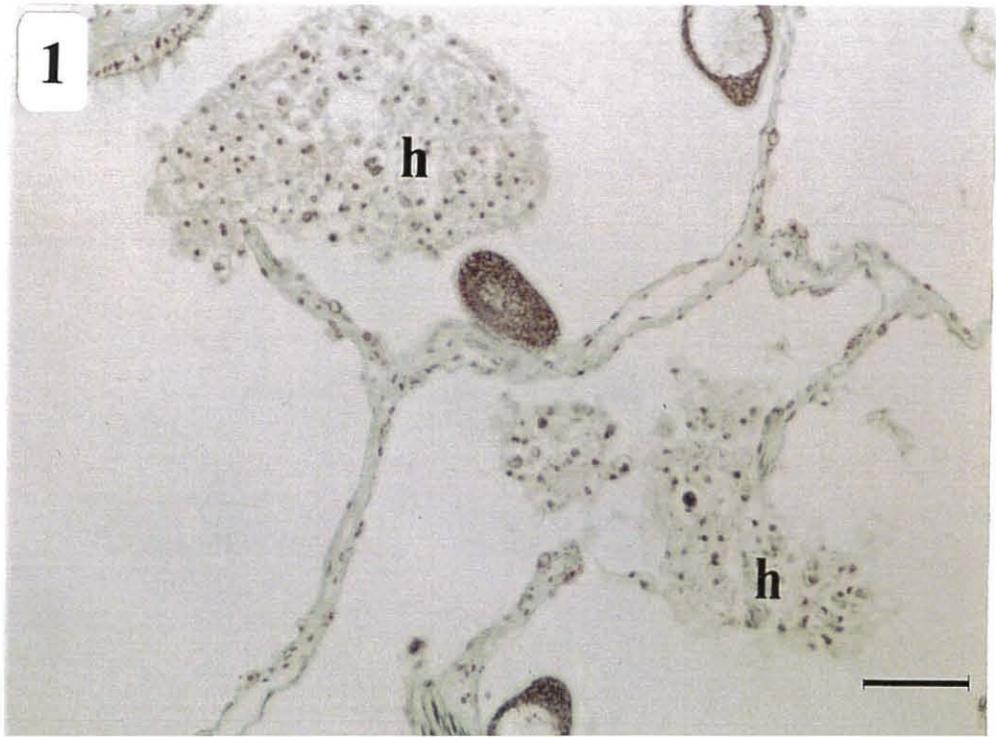


Planche 29

Les gonades des coquilles conditionnées en milieu toxique. L'atrésie ovocytaire.

1. Coupe transversale dans une gonade pleine. Les acini sont bien remplis et les ovocytes sont matures.

Coloration trichrome de Masson, échelle 50µm.

2. Atrésie ovocytaire généralisé.

Coloration trichrome de Masson, échelle 50µm.

3. Les ovocytes situés dans la lumière des acini sont en cours de lyse avancée, il n'en subsiste que des "fantômes membraneux" (fo). On note la présence de corpuscules très denses (k) pouvant être des kystes parasites ou des résidus nucléaires.

Coloration trichrome de Masson, échelle 50µm.

4. La lyse ovocytaire est pratiquement terminée.

Coloration trichrome de Masson, échelle 50µm.

fo : "fantômes d'ovocytes".

k : kyste parasite ou résidu nucléaire.

* : ovocytes immatures.

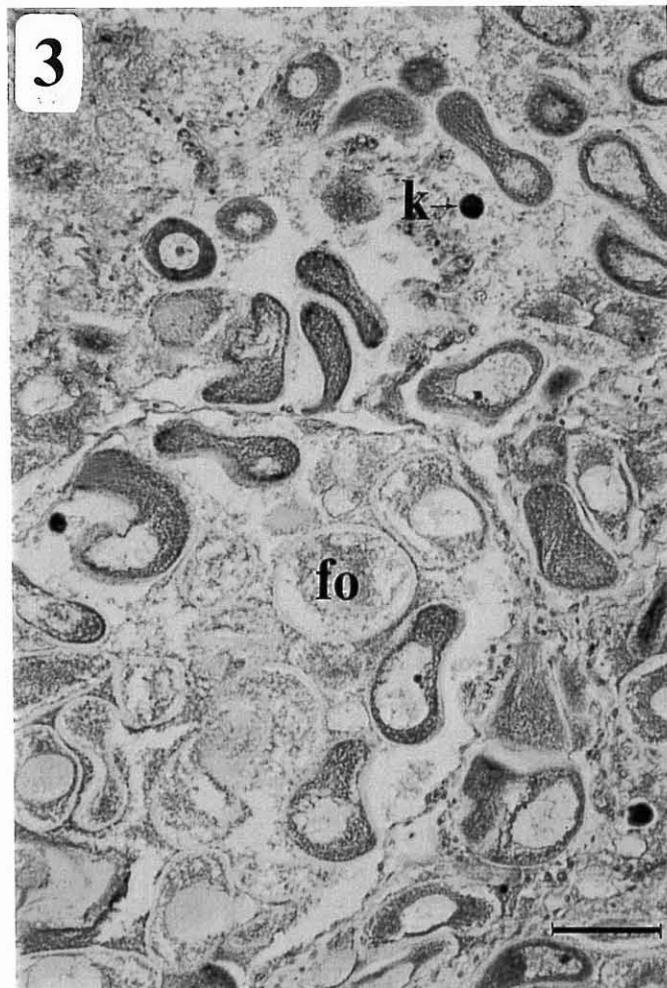
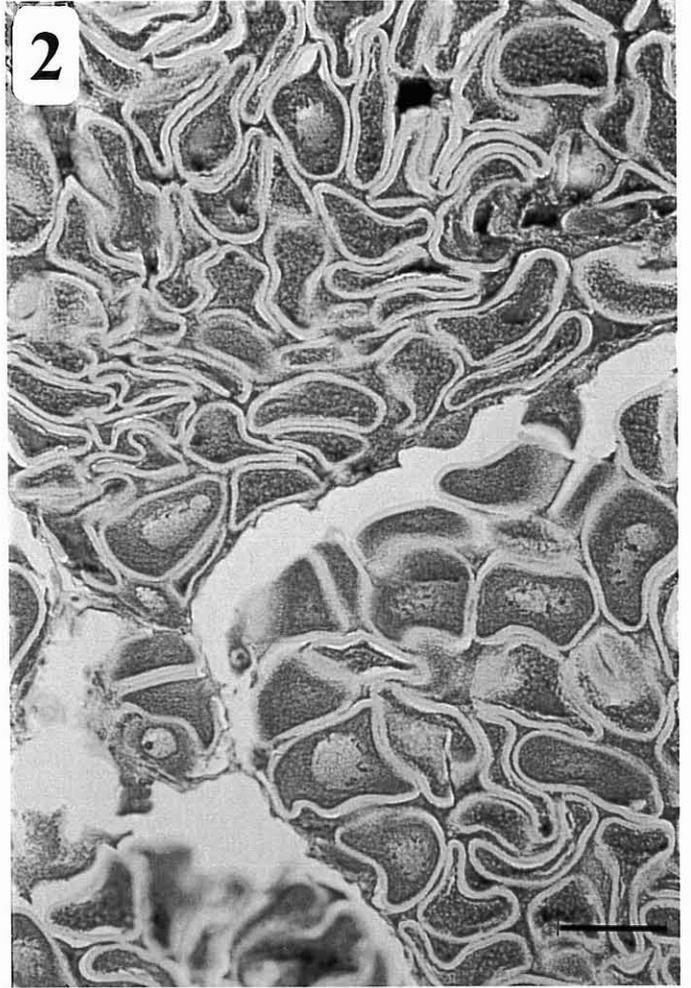


Planche 30

La microstructure foliée des valves de *Pecten maximus* avant conditionnement et des valves considérées comme non altérées par le traitement.

1 à 6. Différents exemples de cristaux normaux observés en microscopie électronique à balayage.

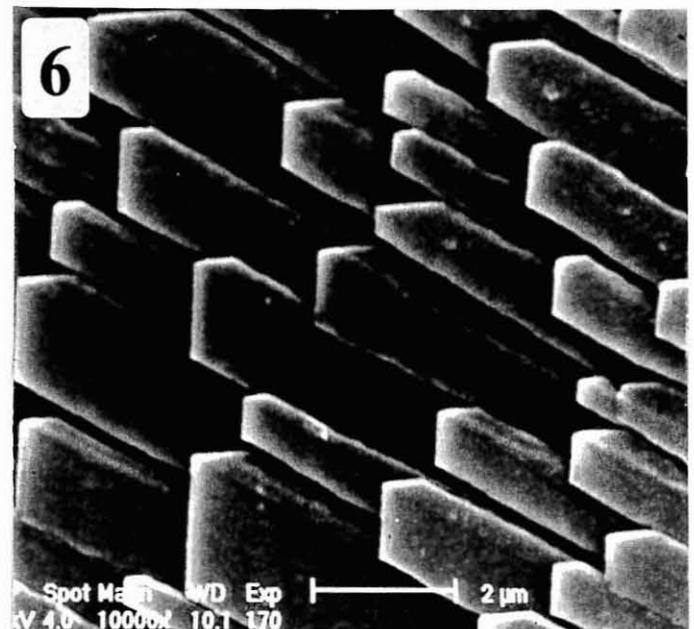
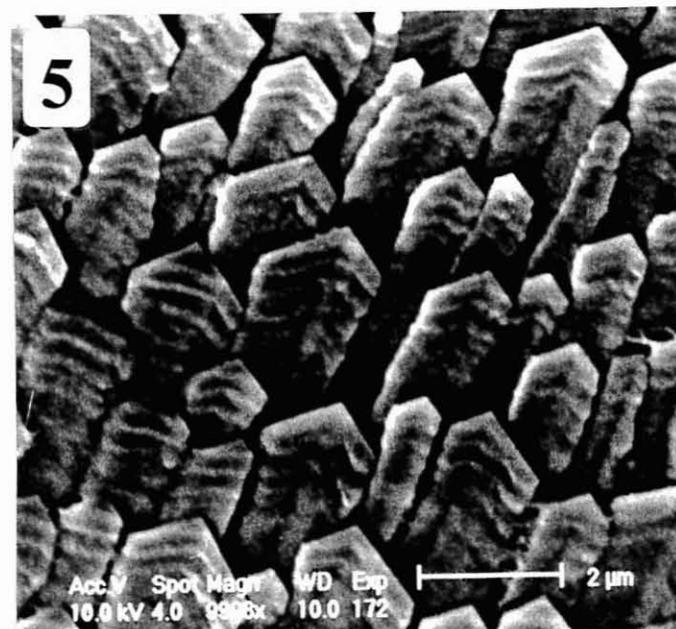
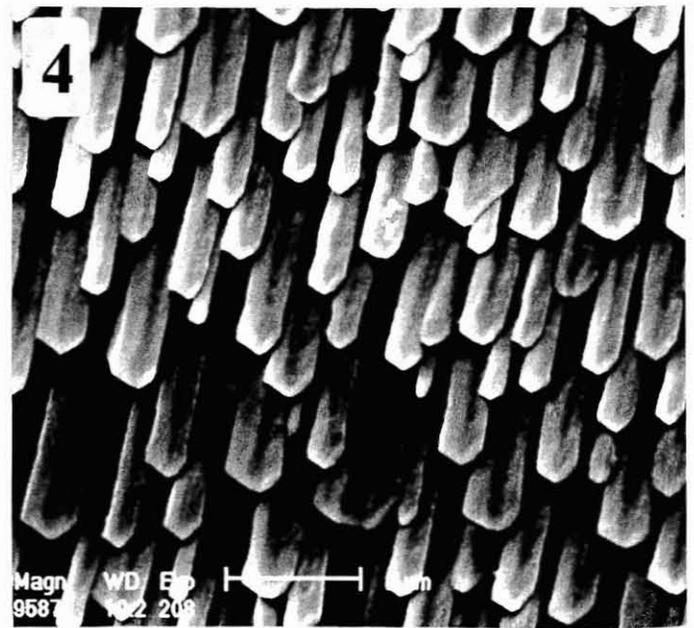
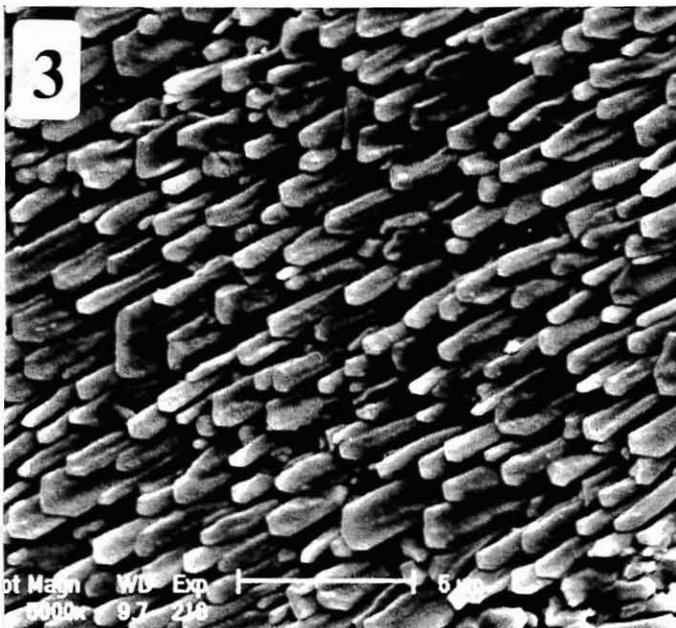
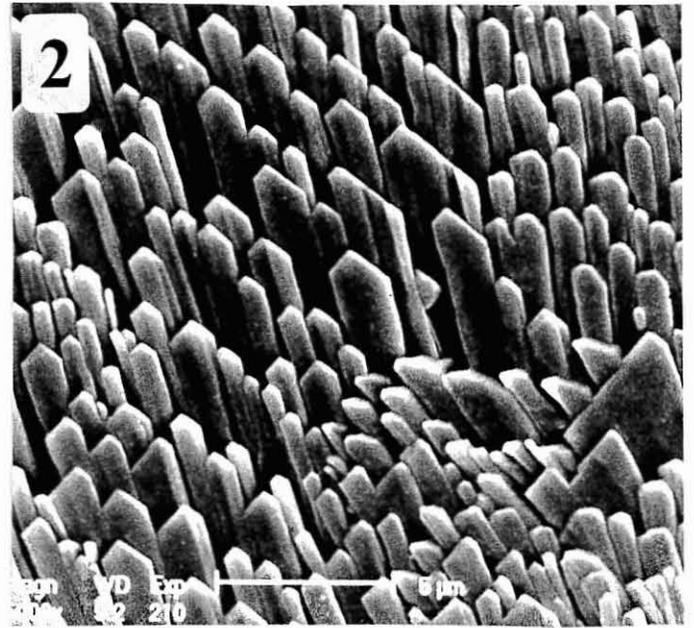
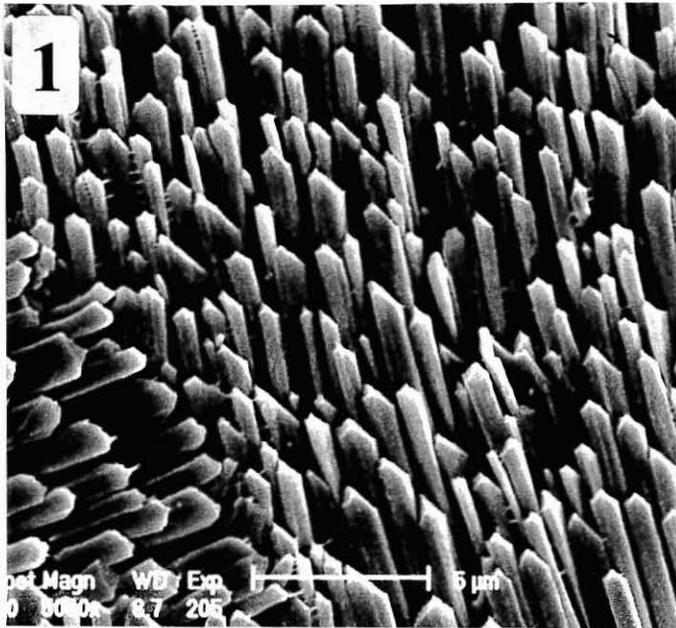


Planche 31

Les altérations microstructurales des valves des juvéniles de *Pecten maximus* traités au diuron.

1, 2 et 3. Début d'altération cristalline, après 15 jours de traitement au diuron 10 μ g/l. Les extrémités de croissance des cristaux foliés sont recouvertes de microcristaux losangiques irréguliers (1 et 2), ou d'un bourrelet calcifié épais débordant de la surface des lates.

4, 5 et 6. Altérations cristallines après un mois de traitement au diuron 5 μ g/l (4) et 10 μ g/l (5 et 6). Un réseau microcristallin anarchique, constitué de granules indépendants, s'est installé aux extrémités et à la surface de l'ancien réseau folié.

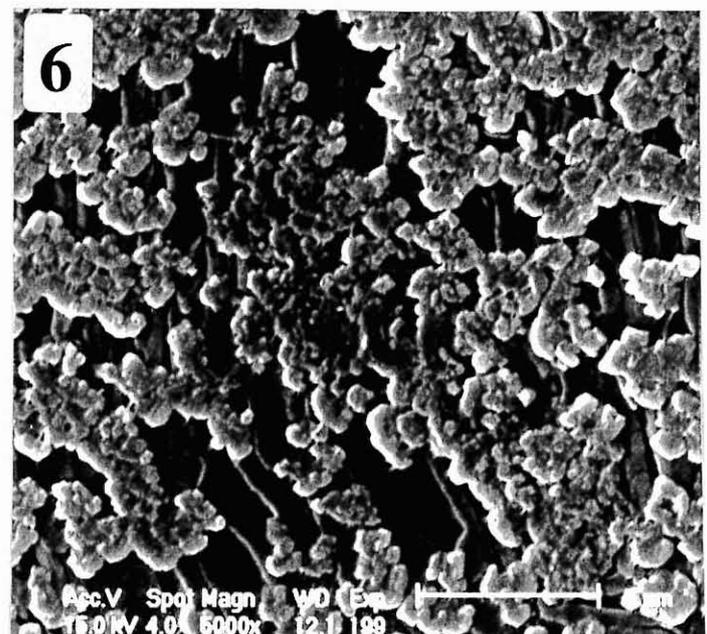
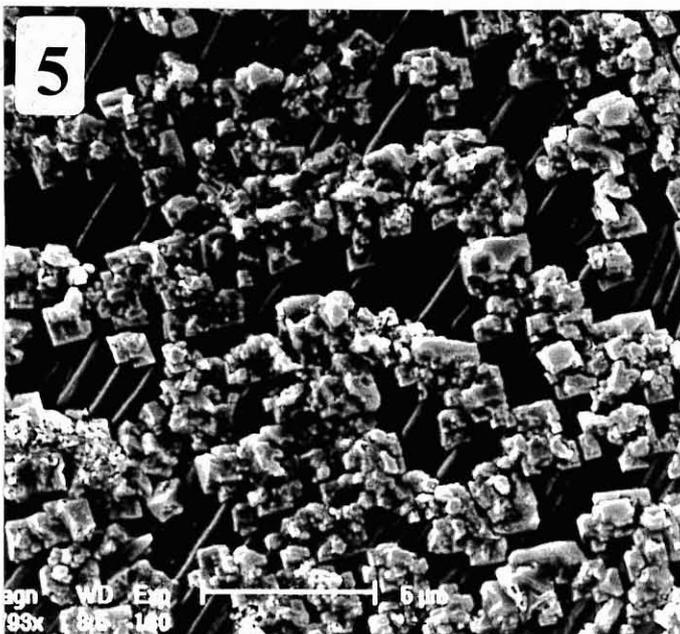
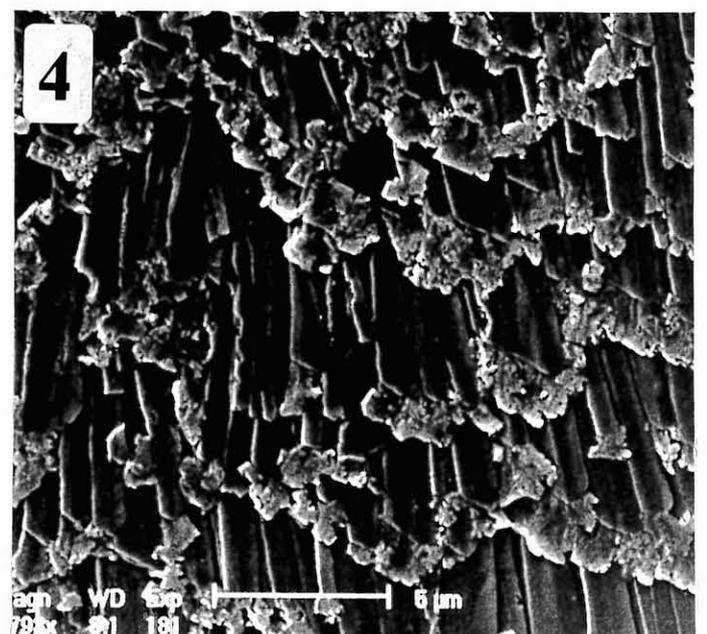
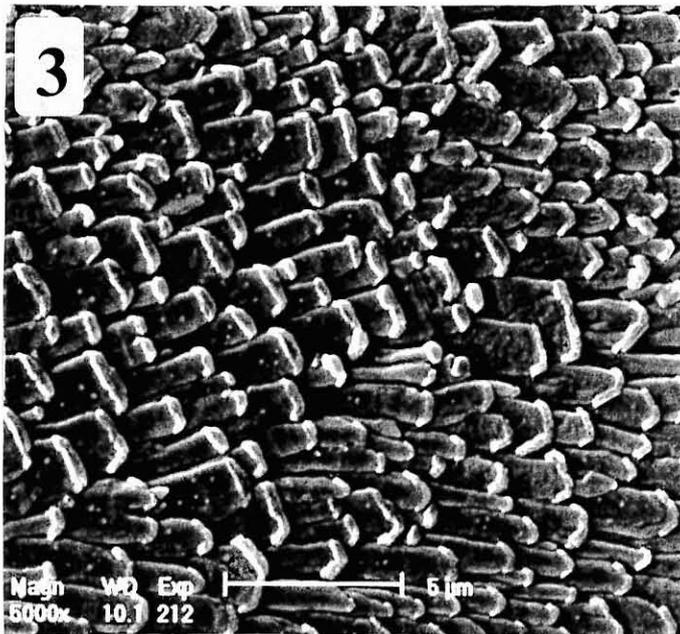
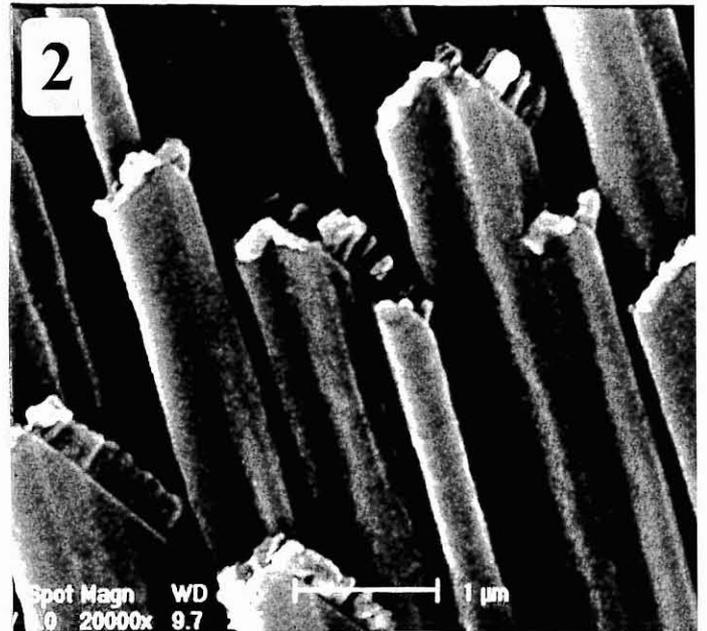
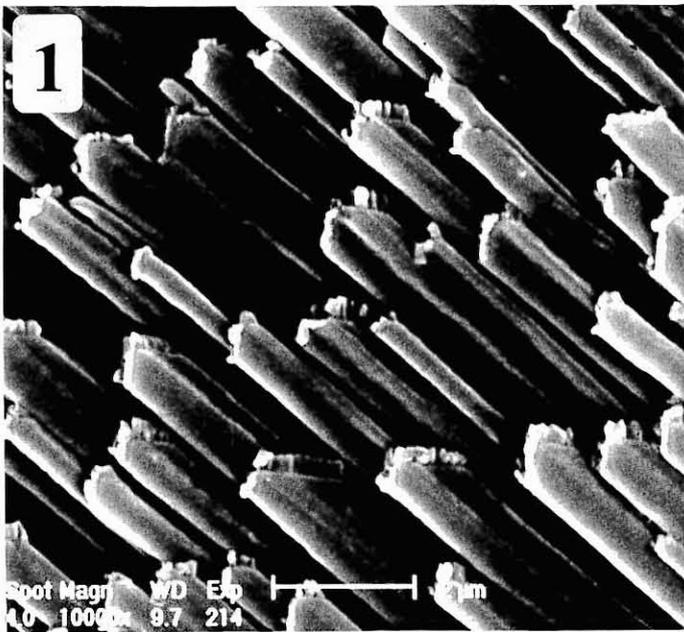


Planche 32

Les altérations microstructurales des valves des juvéniles de *Pecten maximus* traités au diuron.

1. Le bord de croissance d'une valve de *Pecten* traité au diuron $10\mu\text{g/l}$, pendant deux mois. La structure de la couche interne est extrêmement désorganisée. La perte du contrôle du développement cristallin est flagrante.
- 2, 3, 4 et 5. Détail du réseau cristallin à différents endroits plus ou moins éloignés du bord de la coquille, chez des *Pecten* traités au diuron $10\mu\text{g/l}$ (2, 3, 4) et au diuron $5\mu\text{g/l}$ (5), pendant deux mois. La microstructure foliée a disparu pour laisser place à un réseau de petits cristaux quadrangulaires indépendants, à croissance anarchique.
6. Zone de fracture où l'on distingue la microstructure foliée régulière sous le réseau désorganisé installé pendant le traitement au diuron.

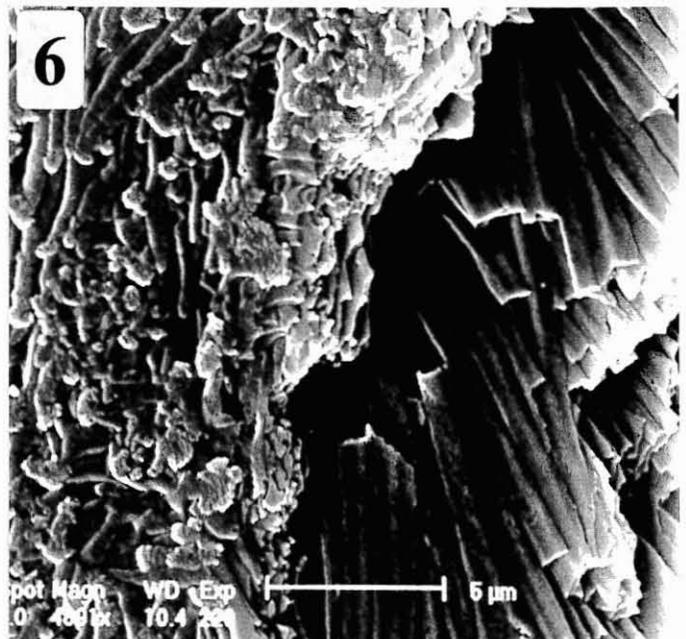
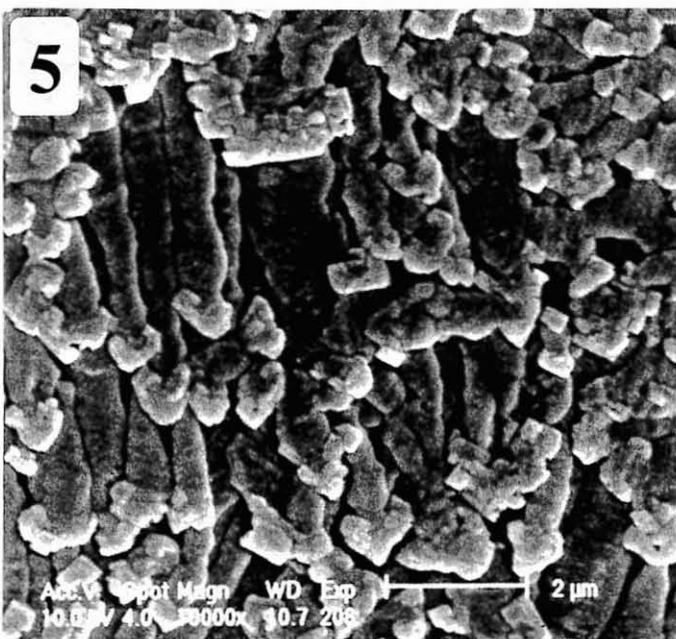
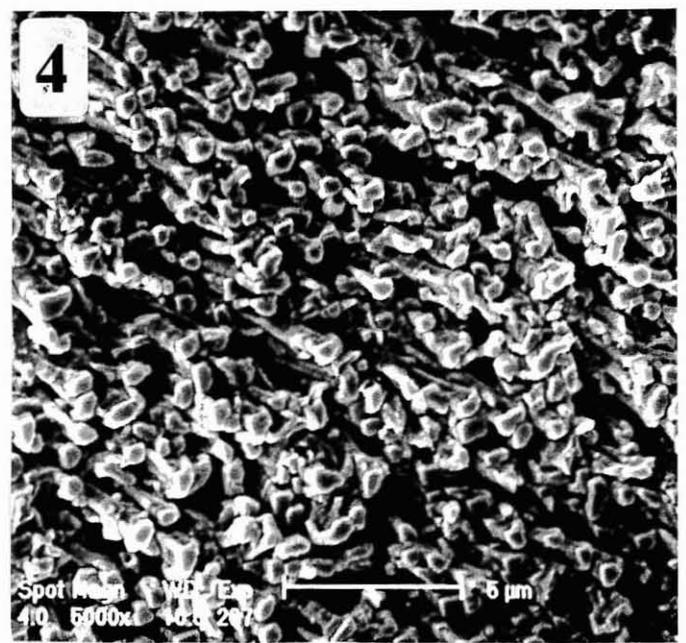
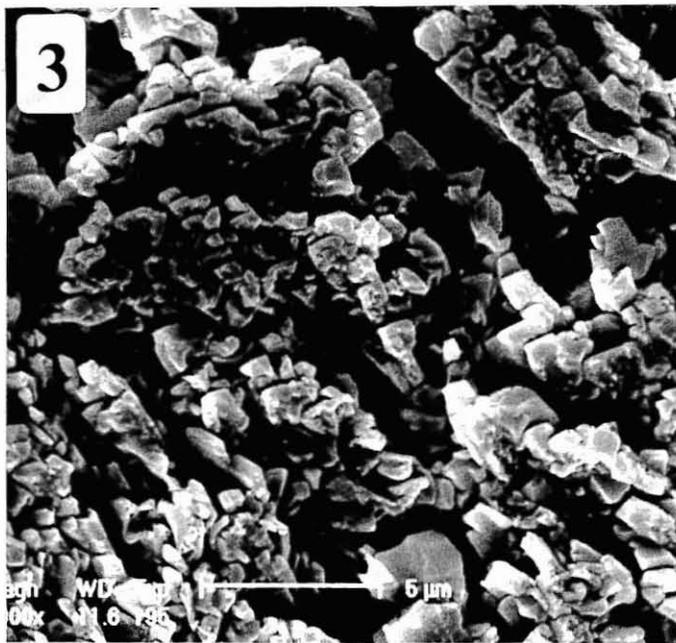
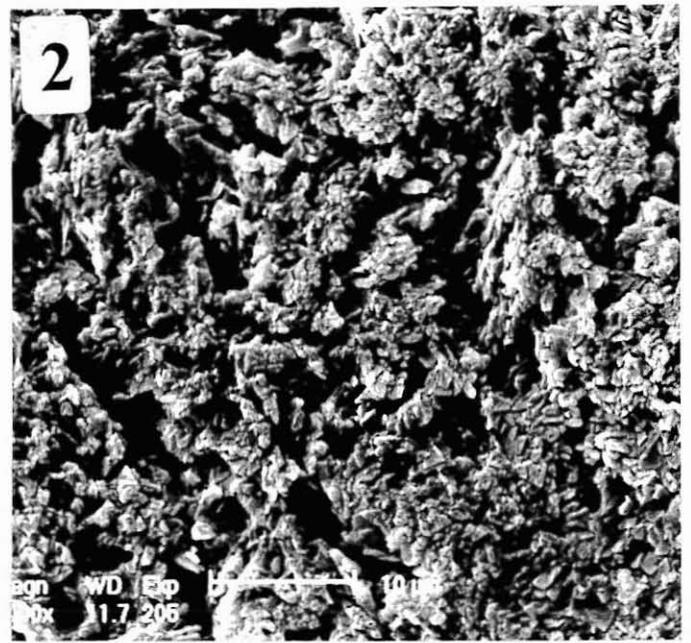
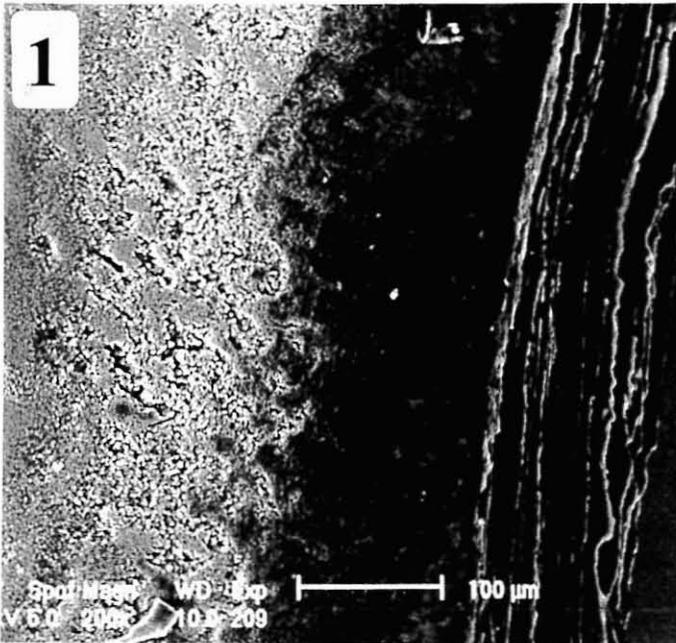


Planche 33

Les altérations des valves de *Pecten maximus* élevées en milieux hyposalins.

1 et 2. Le bord de croissance de deux valves de *Pecten* adultes après deux mois de régime hyposalin (salinité 23). Le bord interne des valves est recouvert de plusieurs couches périostracales, déposées à ce niveau en raison de la rétraction du manteau à l'intérieur de la coquille.

3. Le bord d'une valve de coquille juvénile après un mois de régime hyposalin (salinité 23). La bande sinueuse à droite est un dépôt de sécrétions périostracales.

4. Détail du dépôt organique présenté en 3.

5. Dépôt de lames coquillières en deçà du bord d'une valve de coquille juvénile après deux mois de régime hyposalin (salinité 23).

6. Réseau lacuneux de cristaux foliés altérés à la surface la couche interne d'une valve de coquille juvénile après deux mois de régime hyposalin (salinité 23).

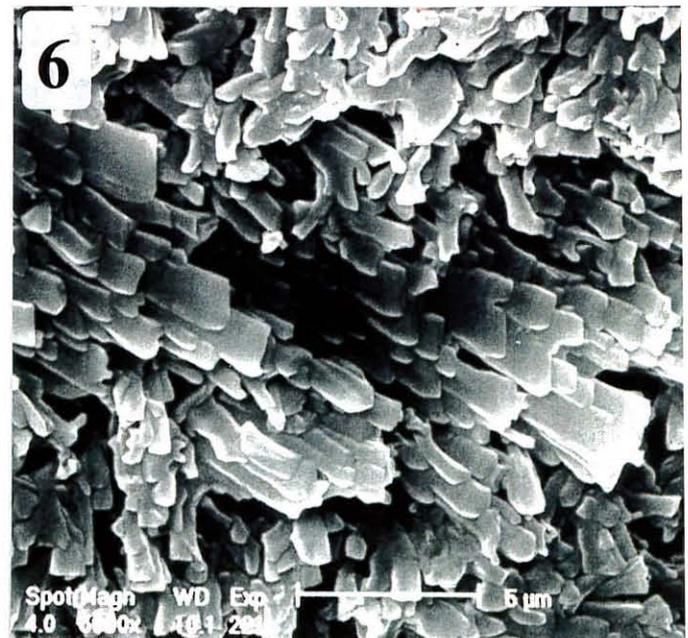
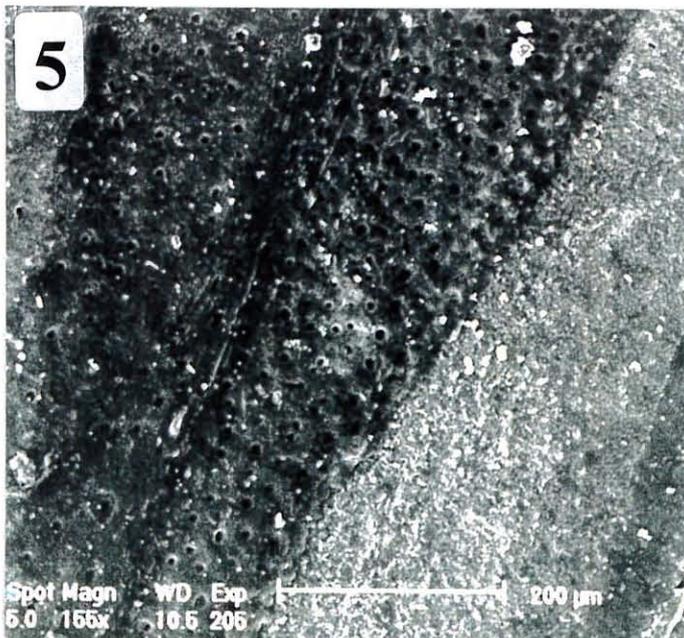
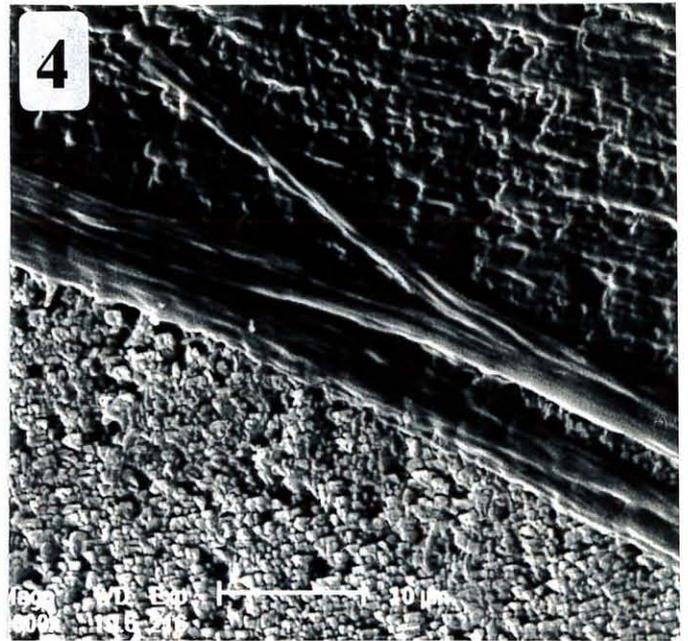
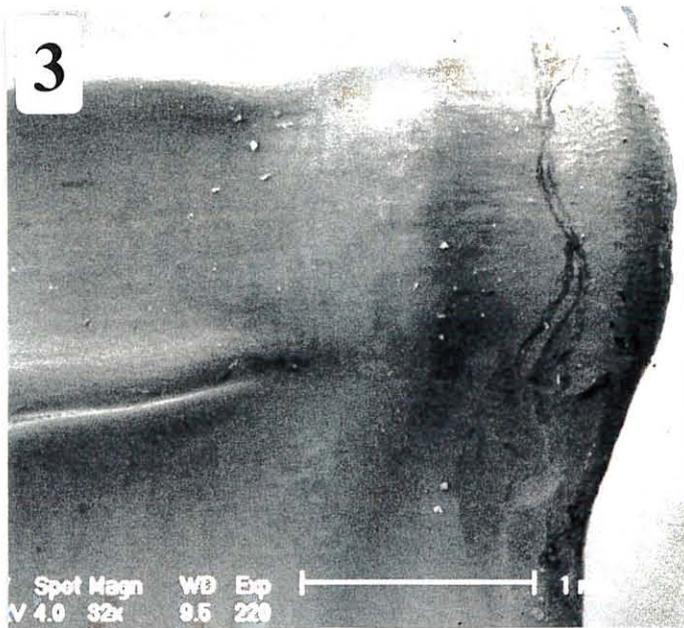


Planche 34

Altérations microstructurales observées après différents traitements.

1. Altérations des extrémités des cristaux foliés chez une coquille juvénile, après 15 jours de traitement au mécoprop 10 μ g/l.
2. Altérations après un mois de traitement au mécoprop 10 μ g/l.
3. Modifications de la microstructure foliée d'une coquille juvénile après deux mois de régime hyposalin (salinité 28).
- 4, 5 et 6. Altérations observées sur les valves de coquilles juvéniles traitées au mécoprop 100 μ g/l, après un mois (4) ou deux mois (5 et 6) de traitement.

