

T H E S E présentée
pour l'obtention
du
DIPLÔME de DOCTEUR DE III^e CYCLE
à
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE
- Paris VI -

spécialité : HISTOLOGIE - CYTOLOGIE

par Monsieur JOLY Jean-Pierre

sujet de la thèse :

CONTRIBUTION A LA BIOLOGIE
DE LA PALOURDE
RUDITAPES DECUSSATUS L.

soutenue le 13 Décembre 1982

Président : Monsieur TAXI
Examineur : Monsieur VAGO
Examineur : Monsieur VOVELLE

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Pathologie du Centre de l' Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes de SETE, en relation avec le Laboratoire de Pathologie Comparée (C.N.R.S. - E.P.H.E. - I.N.R.A.) de l' U.S.T.L. de MONTPELLIER.

Je remercie Monsieur le Professeur TAXI, Directeur du Laboratoire d' Histologie et Cytologie de l' Université Pierre et Marie CURIE, d' avoir accepté la présidence de ce jury.

Toute ma gratitude va à Monsieur VAGO, Professeur à l' U.S.T.L. et Directeur de la Station de Recherches Cytopathologiques de St CHRISTOL-LES-ALES, qui a accepté de suivre ce travail et m' a prodigué de judicieux conseils.

Que Monsieur le Professeur VOVELLE qui a su me communiquer son enthousiasme pour l' étude des Invertébrés marins et qui a accepté de juger ce travail, soit assuré de ma sincère reconnaissance pour son aide et ses conseils.

Je remercie particulièrement Monsieur COMPS qui, pendant tout mon séjour à SETE, a su me soutenir patiemment de ses conseils et de son expérience.

Merci à Patrice VIC, du Laboratoire d' Histologie et d' Embryologie de la Faculté de Médecine de MONTPELLIER, pour son aide amicale et généreuse et ses encouragements dans les moments difficiles.

Je remercie également les personnels des Centres I.S.T.P.M. de SETE et de OUISTREHAM pour leur aide bénévole pendant l' élaboration et la rédaction de ce travail.

<u>Chapitre I. Introduction générale.....</u>	1
<u>Chapitre II. Les problèmes liés à la concentration microbienne du milieu.....</u>	4
<u>Chapitre III. La pathologie des mollusques bivalves.....</u>	7
<u>Chapitre IV. Matériel et méthodes.....</u>	17
1. <u>Les méthodes histologiques et cytologiques.....</u>	17
1.1 Méthodes de fixation.....	17
1.2 Fixation et inclusion.....	18
1.3 Colorations.....	22
2. <u>Matériel et méthodes expérimentales.....</u>	26
3. <u>Les paramètres physico-chimiques.....</u>	29
<u>Chapitre V. Recherche sur la biologie de R. decussatus.....</u>	31
1. <u>Rappel des connaissances actuelles.....</u>	31
1.1 Reproduction de la palourde.....	31
1.2 Le système nerveux.....	34
1.3 Les organes sensoriels.....	35
1.4 Appareil digestif et alimentation.....	36
2. <u>Recherches anatomiques et histologiques particulières..</u>	42
2.1 Le coeur et son fonctionnement.....	42
2.2 Les branchies.....	50
3. <u>Conclusion générales sur le chapitre 5.....</u>	58
<u>Chapitre VI. Recherches sur les infection parasitaires et microbiennes.....</u>	60
1. <u>Introduction.....</u>	60
2. <u>Les parasites Helminthes.....</u>	61
2.1 Trématodes.....	61
2.1.1. Introduction.....	61
2.1.2. Genre Bacciger.....	61
2.1.3. Genre Himasthla.....	65

2.1.4. Genre <i>Gymnophallus</i>	69
2.1.5. Métacercaire non identifiée.....	73
2.1.6. Sporocystes et cercaires non identifiées	76
2.1.7. Discussion et conclusion sur les Trématodes.....	78
2.2 Turbellariés.....	80
3. Les parasites protistes.....	82
3.1. Coccidies.....	82
3.2. Grégarines.....	84
3.3. Haplosporidie.....	86
4. Infections bactériennes.....	90
4.1. Introduction.....	90
4.2. Observations.....	90
4.3. Discussion.....	92
4.4. Conclusions.....	95
5. Infection Rickettsienne.....	95
6. Conclusions sur les infections parasitaires : parasitologie et pathologie.....	98
 <u>Chapitre VII Etude de la concentration par <i>R. decussatus</i>, de</u>	
<u>bactéries en suspension dans l'eau de mer</u>	100
1. Introduction.....	100
2. Méthodologie.....	100
3. Résultats.....	101
3.1. Observations macroscopiques.....	101
3.2. Observations microscopiques.....	102
4. Discussion.....	104
4.1. Efficacité de la filtration.....	104
4.2. Production de pseudo-fécès.....	105
4.3. Transit intestinal.....	108
4.4. Absorption de bactéries.....	110
5. Conclusions.....	110
 <u>Chapitre VIII Conclusions générales et recherches prospectives..</u>	
	112

I INTRODUCTION GENERALE

La palourde (Ruditapes decussatus = Tapes decussatus Linné, 1758) est un mollusque bivalve fouisseur dont l'intérêt commercial se justifie par ses qualités gustatives et par une robustesse notable permettant l'expédition de ce coquillage dans toute la métropole à toute période de l'année. La France produit, par la pêche artisanale, environ 800 tonnes par an (1979), dont 270 tonnes pour le seul Quartier de Sète; il faut également ajouter les importations, essentiellement en provenance de Tunisie (Lac de Tunis), et l'élevage (50 à 100 tonnes par an).

Le prix relativement élevé de ce coquillage à la production, sa robustesse, une volonté de diversification des élevages et une forte demande à la consommation, ont incité les professionnels et les organismes de recherches océanologiques à tenter, avec succès, l'élevage en milieu ouvert ou fermé de la palourde européenne (R. decussatus) et japonaise (R. semidecussatus) à partir de naissain naturel (BOUXIN, 1936) ou d'écloserie (LATROUITE et CLAUDE, 1976, WALNE, 1976, LUCAS, 1977, LATROUITE et PERODOU, 1979, PEYRE et coll., 1980, GRAS et GRAS, 1981).

A titre indicatif, on trouvera ci dessous la production annuelle en milliers d'individus des deux plus importantes écloséries européennes (LUCAS, 1981) :

	Seasalter Shellfish (G.B.) (<u>Ruditapes decussatus</u>)	SATMAR (F.) (<u>Ruditapes philippinarum</u>)
1978	1072	4707
1979	7385	8534
1980	753	18983
1981	?	20400
1982	?	29000

Les techniques mises au point ont pour principal but de soustraire les palourdes à leur principal prédateur, le crabe vert Carcinus maenas (PARACHE, 1980), tout en leur permettant de s'enfouir dans les conditions les plus naturelles possible. En effet, si les palourdes acceptent l'élevage en poche ostréicole en surélévation jusqu'à l'âge de deux ans environ, elles doivent ensuite impérativement retourner à leur élément naturel (sédiment sablo vaseux) afin d'éviter un arrêt total de la croissance (LATROUITE et PERODOU, 1979).

La forte demande en naissain, consécutive à l'extension de l'élevage de la palourde, a conduit, en l'absence de méthode de captage, les écloséries françaises et étrangères à produire de plus en plus de naissain de palourde;

Actuellement, en France, le choix des professionnels se porte sur le naissain de palourde japonaise, estimé plus productif (LATROUITE et CLAUDE, 1976, MAITRE-ALLAIN, 1979, GRAS et GRAS, 1981).

Les anglais, dans le souci d'éviter l'introduction de germes d'origine étrangère, pathogènes pour le cheptel indigène, interdisent actuellement la culture de l'espèce asiatique.

Ce souci de la protection des espèces indigènes a d'ailleurs conduit le gouvernement français à mettre en place une législation stricte des importations de coquillages étrangers par passage obligatoire en station de "quarantaine" des coquillages destinées à être réimmergés en eau française, et dépistage systématique des germes infectieux éventuels par les méthodes histologiques classiques.

Cette protection contre l'introduction de microorganismes pathogènes a été décidée à la suite des épizooties massives qui ont frappées l'huitre creuse portugaise (Crassostrea angulata) en 1970 et 1973, puis plus récemment l'huitre plate (Ostrea edulis), décimée par un nouveau parasite: Bonamia ostreae PICHOT et Coll., 1979 (1981), signalé dès 1980 par COMPS et Coll., (1980).

Devant l'engouement des professionnels pour la venericulture et la faiblesse des connaissances sur les infections parasitaires de la palourde européenne (R. decussatus) d'origine française et étrangère-

re, que PARACHE a involontairement souligné dans un article de synthèse récent (PARACHE, 1982), nous avons été amené à recenser systématiquement les parasites présents dans les palourdes servant ou non à nos investigations expérimentales sur les problèmes liés à la concentration des germes bactériens par ces organismes filtreurs.

Ce bilan des infections parasitaires actuelles apparaît d'autant plus nécessaire que les mortalités hivernales de 1978, 1980, 1981 et 1982, qui ont atteint les élevages de palourdes, restent inexplicables.

II LES PROBLEMES LIES A LA CONCENTRATION MICROBIENNE DU MILIEU

Le suivi de l'état sanitaire des zones d'élevage ou de pêche des coquillages a été et est toujours un souci permanent des organismes chargés de la protection de la Santé Publique (BRISOU, 1978).

Les bactéries sont universellement répandues sur terre et sur mer ; si certaines bactéries d'origine marine sont pathogènes (TAKEUCHI et coll., 1960) ou au contraire bénéfiques pour les coquillages (ex : dans la nutrition, MARTIN, 1976, MENGUS, 1978), certaines bactéries d'origine tellurique peuvent provoquer de graves intoxications alimentaires chez le consommateur absorbant des coquillages élevés en zone polluée.

Ces intoxications peuvent être induites par les produits de dégradation bactérienne de coquillages avariés (PAOLETTI, 1965b) ou plus fréquemment par l'absorption de germes pathogènes d'origine entérique véhiculés par les mollusques filtreurs (MAZIERES, 1963, BOURY et BORDE, 1964, PAOLETTI, 1965a, FAUVEL, 1967).

Il est en effet maintenant bien établi que les mollusques bivalves filtrent relativement passivement les particules en suspension dans l'eau de mer (BOURY et BORDE, 1964, DAVIDS, 1965, FORSTER SMITH, 1975, a, b, et c, QUILLIEN MONOT, 1978, HIGGINS, 1980 et JORGENSEN, 1981).

Les bactéries, malgré une relative mobilité parfois, se comportent passivement dans l'eau de mer, et leur capture et rétention par les mollusques filtreurs ne dépend en fait que de l'efficacité du système de filtration, c'est à dire les branchies. Selon OWEN et Mc CRAE (1976), certains mollusques bivalves peuvent retenir des particules inférieures au micron, taille dépassée par beaucoup de bactéries d'origine entérique.

Si quelques auteurs se sont attachés à élucider les mécanismes de nutrition et de transit intestinal des particules alimentaires

(THOMPSON et BAYNE, 1972, FORSTER SMITH, 1975 b), d'autres les relations trophiques entre mollusques bivalves et bactéries (MENGUS, 1978), peu ont tenté de visualiser histologiquement les phénomènes de concentration de ces bactéries. Seul PRIEUR (1980, 1981), a fourni des images intéressantes, notamment en microscopie électronique à balayage, sur le passage des microorganismes (phytoplanctons et bactéries) dans le tractus digestif de larves et juvéniles de bivalves.

Il existe sur la côte méditerranéenne un particularisme régional qui rend ces problèmes très sensibles.

En effet, les étangs méditerranéens, par leur structure relativement fermée, subissent fortement les pollutions d'origine tellurique (lessivage des versants après les pluies d'orage par exemple), augmentées de l'apport régulier des communautés urbaines riveraines (FAUVEL, 1967). Le temps de résidence des pollutions bactériologiques est évidemment supérieur à celui que l'on pourrait enregistrer après un débouché direct en mer (milieu estuarien). Moins de brassage et de renouvellement de l'eau, conduisent à une forte sédimentation des germes, alors facilement absorbables par les mollusques fouisseurs filtreurs comme la palourde.

En été, l'eutrophisation du milieu, à laquelle les apports urbains participent pour une part importante (AMANIEU et coll., 1975), conduit à des crises dystrophiques dont les proliférations bactériennes aérobies hétérotrophes, puis anaérobies sulforéductrices sont un des éléments marquant (CAUMETTE, 1978, 1980).

On se rend ainsi compte que les organismes marins infralittoraux, et particulièrement les bivalves fouisseurs, se trouvent mis en présence continue d'apports bactériens d'origine endogène ou exogène au milieu marin ou lagunaire.

Pour résoudre le problème du comportement des palourdes faces à ces proliférations bactériennes, nous avons été amené à préciser l'ultrastructure du système de filtration de la palourde R. decussatus et sa capacité de rétention de bactéries d'origine entérique et marine;

nous avons continué en suivant histologiquement le cheminement, en l'occurrence le transit intestinal, des bactéries après filtration de fortes concentrations bactériennes en eau de mer par les palourdes maintenues dans un milieu expérimental.

Le but de l'expérience est de préciser et d'essayer d'expliquer les processus de contamination, et la cinétique de décontamination, observée par quelques auteurs (FAUVEL, 1967, PERKINS et Coll., 1980) chez les mollusques bivalves élevés en milieu pollué et destinés, après une purification obligatoire en eau propre, à l'alimentation humaine.

III LA PATHOLOGIE DES MOLLUSQUES BIVALVES

La conchyliculture, connue depuis l'Antiquité, fournit une part non négligeable de l'alimentation humaine. La pêche, souvent artisanale, de Mollusques bivalves (Coquilles Saint Jacques, Coques, Palourdes, Praires, Pétondes, Tellines...) complète cette mise en valeur par l'Homme d'un cheptel marin important. En France, la production de Mollusques bivalves dépasse annuellement 170 000 tonnes, 100 000 tonnes étant dues à l'ostréiculture.

Toutefois, la production de Mollusques bivalves a été souvent confrontée à de graves problèmes d'ordre pathologiques qui n'ont d'ailleurs cessé de s'accroître avec le développement de cultures nouvelles dans le milieu naturel et d'élevage en milieu contrôlé (écloseries, nurseries).

Une importante littérature a été consacrée aux maladies de ces animaux. CHENG (1967) et SINDERMAN (1967) ont fait une revue des principales maladies et parasitoses connues à l'époque, affectant les Mollusques marins d'importance économique. SINDERMAN (1970) a repris une étude comparable en insistant sur les mécanismes de défenses internes de ces animaux et sur les relations entre les maladies animales et les maladies humaines. Récemment COMPS (1978) a fait le point sur les recherches actuelles en pathologie des huîtres.

Les études ont été diverses et ont portées essentiellement sur des maladies d'origine bactérienne ou fongique et sur des parasitoses dues à des Protozoaires, des Vers (Trématodes, Nématodes et Cestodes) ou encore des Crustacés. Des recherches récentes ont enfin permis de développer des secteurs nouveaux de la pathologie des Bivalves marins avec les descriptions d'infections virales et rickettsiennes.

Les Bactéries

Les maladies causées par des bactéries ont été peu étudiées. Des infections bactériennes ont été associées à des mortalités massives d'huîtres au Japon en 1945 (TAKEUCHI et Coll., 1960) et 1960, ainsi que sur la Côte Ouest des Etats Unis (GLUDE 1974).

Les Champignons

Parmi les maladies dues aux Champignons, deux sont importantes. En premier lieu, il faut signaler aux Etats Unis, les mortalités estivales d'huîtres creuses Crassostrea virginica dues à une infection par Labyrinthomyxa marina Mackin et Ray (Dermocystidium marinum Mackin, Owen et Collier). Décrit pour la première fois par MACKIN, OWEN et COLLIER (1950), ce champignon a fait l'objet de nombreuses études (MACKIN 1951, MACKIN 1962, PERKINS 1969). Le cycle commence par l'invasion et la destruction de l'épithélium stomacal, puis le parasite infeste le corps de l'animal inhibant le développement des gonades et amaigrissant l'huître dont la croissance est arrêtée. La température et la salinité jouent un rôle essentiel dans l'infection ; les températures élevées favorisent et les salinités basses (15%) ralentissent le développement du parasite.

Dans ce groupe on mentionnera un protiste, proche de L. marina mis en évidence en culture cellulaire d'huître Crassostrea gigas (COUSSERANS et Col., 1974).

Par ailleurs, une mycose affectant la charnière et la coquille des huîtres Crassostrea angulata et Ostrea edulis a été attribuée au champignon Ostracoblabe implexa, Bornet et Flahaut 1889 (ALDERMAN et JONES, 1971). Décrite par GIARD (1894) et KORRINGA (1948) cette affection, appelée "Maladie de la charnière" ou "Maladie du pied" peut provoquer des mortalités.

Enfin des affinités fungiques ont été attribuées par FRANC et ARVY (1970) à un Protiste nouveau, Thanatostrea polymorpha FRANC et ARVY, 1969 présumé responsable de la maladie des branchies, de

l'huître portugaise Crassostrea angulata Lmk.

Les Protozoaires

Les protozoaires appartenant à différents groupes sont à l'origine de plusieurs maladies observées dans les élevages de bivalves marins.

A . LES SPOROZOAIRES

a) Les Haplosporidies

Les Haplosporidies pathogènes sont principalement représentées par le genre Minchinia dont les deux espèces M. nelsoni et M. costalis parasitent l'huître creuse américaine Crassostrea virginica

Minchinia costalis découvert par WOOD et ANDREWS (1962) et d'abord appelé Haplosporidium costale fut réintégré dans le genre Minchinia Labbé (1896) par SPRAGUE (1963). Parasite du tissu conjonctif de Crassostrea virginica, il a été à l'origine de mortalités sur les côtes de Virginie et du Maryland.

Minchinia nelsoni Haskin, Stauber et Mackin (HASKIN et Coll. 1966) d'abord connu sous le nom de M.S.X est responsable de mortalités, sur les côtes du Connecticut et de la Caroline du Nord. En baie Delaware, on a enregistré plus de 95% de perte en 1959 (MACKIN 1960). Le parasite envahit le tissu conjonctif des palpes, des branchies et enfin l'ensemble de l'organisme. FARLEY (1967) et PERKINS (1969 b) ont étudié le cycle de ce sporozoaire.

D'autres Haplosporidies dont le pouvoir pathogène est limité ont été reconnues chez plusieurs bivalves marins, notamment chez l'huître plate Ostrea edulis (PICHOT et Coll., 1979 (1981) et CAHOUR et Coll. (1980)), et enfin chez la Palourde Ruditapes decussatus (VILELA, 1951) avec l'espèce nouvelle Haplosporidium Tapetis.

b) Les parasites du genre Marteilia

Des parasites présentant des affinités mais aussi des différences avec les Haplosporidies ont été regroupés dans le genre Marteilia, nouvellement créée (GRIZEL et Coll. 1974), dont la position systématique est encore mal définie.

L'espèce type est M. refringens (GRIZEL et Coll., 1974), agent de la maladie de l'huître plate des Côtes françaises.

Décrit par COMPS (1970) dans le bassin de Marennes Oléron puis par HERRBACH (1971) en Bretagne, ce parasite a causé depuis 1968 des mortalités importantes dans les élevages (GRIZEL et TIGE, 1973).

Le développement du parasite a lieu au niveau de l'épithélium digestif suivant un cycle dont les différentes phases ont été étudiées en microscopie électronique (BONAMI et Coll. 1971, GRIZEL et Coll., 1974 et PERKINS, 1976). Le cycle est caractérisé par une multiplication endogène de cellules aboutissant à la formation de "spores" de structure complexe comportant des particules denses structurées assimilables aux haplosporosomes des Haplosporidies (PERKINS, 1976).

Une deuxième espèce a été observée chez Crassostrea commercialis en Australie (Baie Moreton) (WOLF, 1972) et décrite sous le nom de M. sydneyi n.sp. (PERKINS et WOLF, 1976).

Enfin deux autres espèces ont été signalées, Marteilia lengehi ng. nsp. parasite de Crassostrea cuculata dans le Golfe persique (COMPS, 1976) et Marteilia sp. parasites occasionnels de Cardium edule et de Mytilus edulis sur les côtes bretonnes (COMPS et Coll., 1975).

c) Les microsporidies

Les microsporidies représentent, tant par leur nombre que par leur pouvoir pathogène, un groupe de parasites peu important pour les bivalves marins.

Chez la moule Mytilus edulis, Steinhausia mytilovum Field, et chez l'huître Ostrea edulis, Steinhausia ovicola LEGER et HOLLANDE, parasitent les ovules. Des spores d'une microsporidie non déterminée ont été signalées chez Cardium edule (COMPS et Coll. 1975). JONES (1981) décrit récemment une nouvelle microsporidie (Microsporidium rapuae) parasite de l'huître Ostrea lutaria de Nouvelle Zelande. On peut enfin signaler une microsporidie parasite de Marteilia refringens, agent infectieux de Ostrea edulis (COMPS et Coll. 1979).

d) Les Grégarines

Ces sporozoaires sont principalement représentés par le genre Nematopsis, parasite hétéroxène de Crabes et de mollusques (CHENG 1967). Les gymno-spores du parasite se développent jusqu'à la formation de spores résistantes dans les hémocytes de l'huître Crassostrea virginica et le crabe s'infeste en absorbant des hémocytes.

Les spores de Nematopsis pryterchi Sprague, 1949 parasitent les branchies de Crassostrea virginica et le crabe Menippe merceharia s'infeste en ingérant des huîtres.

Une troisième espèce Nematopsis legeri de Beauchamp, 1910, infecte différents mollusques bivalves des côtes Européennes.

Les spores de Nematopsis ne semblent provoquer que des réactions histopathologiques locales chez les mollusques et aucune mortalité due au parasite n'a été mise en évidence dans le milieu naturel.

Les flagellés

Les flagellés sont essentiellement représentés par une espèce du genre Hexamita, couramment rencontrés dans les élevages d'huîtres. Hexamita inflata a été décrit par CERTES en 1882 (in CHENG 1967) dans l'estomac d'Ostrea edulis. Hexamita a été souvent

associée à des mortalités de mollusques bivalves mais comme des expériences d'infestation l'ont montré (SCHELTEMA 1962 in CHENG 1967), le pouvoir pathogène d'Hexamita inflata ne paraît pas évident.

Les ciliés

Les ciliés rencontrés chez les huîtres comprennent de nombreux genres de l'ordre des Thigmotriches avec notamment Ancistrocoma pelseneeri décrit par MACKIN (1962) dans les huîtres américaines.

LES METAZOAIRES

a) Les cnidaires

On peut citer un cas de parasitisme chez Ruditapes decussatus par une leptoméduse nouvelle Eugymnanthea inquilina PALOMBI (1936), dérivant d'un hydroïde parasite de la cavité palléale. VILELA (1950) signale qu'en Octobre 1948, 8% des palourdes étaient contaminées par cet hydroïde.

b) Les vers

Les Plathelminthes

Parmi les vers parasites de mollusques bivalves les Plathelminthes et en particulier les Trématodes, sont bien représentés. Ces parasites hétéroxènes se rencontrent sous forme de Sporocystes avec cercaires ou métacercaires enkystées dans les mollusques. L'hôte définitif est très souvent un vertébré (poisson ou oiseau) prédateur des mollusques. Si les stades larvaires parasites des mollusques bivalves ne provoquent pas ou rarement la mort de l'hôte, ils peuvent l'affaiblir suffisamment pour offrir une moindre résistance aux prédateurs. Nous ne traiteront ici que des vers parasites de Ruditapes decussatus dont nous reparlerons ultérieurement.

En étudiant des palourdes du Golfe de Naples, PALOMBI (1934) a rencontré un certain nombre de Trématodes parasites dont certaines espèces nouvelles :

Bucephalopsis haimeana, Metacercaria (Gymnophallus) Srigata, M. (Gymnophallus) megacoela PALOMBI, Cercaria ophiocerca PALOMBI, Lepocreadium album, Metacercaria acherusi PALOMBI.

VILELA(1950) signale la présence d'une larve miracidum à l'intérieur du tube digestif, et une cercaire non identifiée dans la branchie de Ruditapes decussatus.

Plus récemment, BARTOLI(1965) découvre chez Ruditapes decussatus, une metacercaire nouvelle de la famille des Gymnophallidae : Gymnophallus fossarum BARTOLI, occupant un micro-biotope particulier et provoquant des altérations de la musculature du bord du manteau(BARTOLI, 1973).

Les cestodes sont surtout représentés par deux genres : Tylocephalum et Echeneibothrium. Le premier provoque une vive réaction hémocytaire chez Ruditapes semi-decussatus et peut parfois être résorbé. Le deuxième s'enkyste dans les tissus de Venerupis staminea l'affaiblissant suffisamment pour faciliter son ingestion par des prédateurs(CHENG 1967).

c) Les crustacés

Parmi les crustacés, les copépodes Myrtilicola intestinalis et M.orientalis sont des parasites fréquents. Des mortalités massives de Mytilus edulis et Mytilus galloprovincialis en 1949 en Zélande ont été associées à la présence en grand nombre de M.intestinalis dans le tube digestif des moules(KORRINGA, 1951). Sur les côtes de l'Océan Pacifique, Myrtilicola orientalis se rencontre chez Crassostrea gigas, Ostrea lurida, Venerupis staminea, Mytilus edulis, M.crassistesta et Crepidula fornicata (CHENG 1967).

MALADIES A RICKETTSIES

La découverte de micro-organisme de type Rickettsien parasite de mollusques bivalves est récente. HARSHBARGER et coll. (1977) signalent pour la première fois une Rickettsie et une Chlamydie avec phages, respectivement chez Mya arenaria et mercenaria mercenaria, et un micro-organisme ressemblant à un Mycoplasme de cellules intestinales de Crassostrea virginica.

La chlamydie est une Rickettsie, parasite intracellulaire, présentant un cycle comprenant trois formes principales: les corps initiaux, les corps intermédiaires et les corps élémentaires, ces derniers étant les formes d'infestation du parasite.

Dans le même temps, COMPS et Coll.(1977 b) décrivent pour la première fois en Europe un micro-organisme de type Rickettsien chez Crassostrea gigas. Les caractéristiques du parasite de l'épithélium des diverticules digestifs de Crassostrea gigas permettent de faire un rapprochement avec le genre Coxiella. Par ailleurs BUCHANAN(1978) observe une rickettsie(avec un cas d'hyperparasitisme par un phage) chez Tellina tenuis. Ce micro-organisme, parasite des cellules sécrétrices de la glande digestive, est proche du genre Coxiella de la famille des Rickettsiaceae.

En étudiant des mortalités de tellines Donax trunculus dans la région du Grau du Roi, COMPS et RAIMBAULT(1978) mettent en évidence une Rickettsie parasite des cellules sécrétrices des tubules digestifs. Les caractéristiques du micro-organisme et entre autres sa localisation dans des vacuoles cytoplasmiques le font rapprocher, comme les Rickettsies de C.gigas et T.tenuis, du genre Coxiella(COMPS et RAIMBAULT, 1978, COMPS, 1979).

COMPS et DELTREIL(1979), ont observé dans l'épithélium de l'hépathopancréas de l'huître portugaise Crassostrea angulata un micro-organisme de type Rickettsien présentant un cycle dont les formes s'apparentent à celles connues chez les Chlamydies ou les Rickettsiella. Toutefois la forme originale des corps

élémentaires particularise cette Rickettsie par rapport aux deux groupes cités.

Récemment enfin, COMPS et coll. (1979 (1981) décrivent un microorganisme rickettsien, parasite du lavignon Scrobicularia piperata, dont l'originalité morphologique par rapport aux genres existants, diffère la classification.

LES MALADIES VIRALES

On ne connaît actuellement qu'un nombre limité de virus chez les mollusques bivalves. Le premier cas, signalé par FARLEY et Coll.(1972) concernait une infection de l'huître Crassostrea virginica par un virus de type Herpès, chez des huîtres maintenues expérimentalement à une température élevée.

Ce n'est qu'en 1976 que des infections virales ont été décrites chez des huîtres subissant des épizooties dans le milieu naturel. Deux virus de type Iridovirus ont en effet été décelés chez l'huître portugaise Crassostrea angulata, d'abord avec la "maladie des branchies" (COMPS et DUTHOIT, 1976), ensuite avec les mortalités massives de 1970 (COMPS et coll., 1976). Ces virus ADN ont une morphogénèse cytoplasmique qui dans le cas de la maladie des branchies entraînerait une hypertrophie cellulaires, dont la mise en évidence en fluorescence (COMPS, 1980) est aisée.

Une virose semblable à celle de la mortalité de 1970 a par ailleurs, été signalée lors de mortalité estivale de Crassostrea gigas dans le bassin d'Arcachon (COMPS et BONAMI, 1977).

Plus récemment, des mortalités de larves de C.gigas en écloserie ont été attribués à un virus dont la virogénèse intracytoplasmique rappelle les précédents virus (ELSTON, 1979).

Dernièrement OPRANDY et Coll.(1981) ont mis en évidence

l'origine virale d'une affection hémocytaire neoplastique chez Mya arenaria.

Enfin il convient de rappeler que des phages ont été trouvés chez des Rickettsies parasites de bivalves : Tellina tenuis (BUCHANAN, 1977) et Mercenaria mercenaria (HARSHBARGER et Coll. 1977).

Il apparaît à travers ces données bibliographiques que si l'étiologie de certaines maladies n'est pas toujours apparue évidente, les progrès dus à l'utilisation de la microscopie électronique ont permis d'associer, récemment, des parasitoses dus à des micro-organismes à des mortalités massives de mollusques bivalves. La microscopie électronique a aussi permis de révéler la structure fine de ces parasites connus. Il est indéniable que cette technique associée aux mises au point de nouvelles cultures cellulaires de mollusques marins permettra des progrès importants en Pathologie.

Nous avons pu, aux cours de nos expérimentations, mettre en évidence un certain nombre de parasites de la Palourde Ruditapes decussatus L., dont quelques uns nouveaux, et nous avons décrit ces organismes et leurs effets pathogènes sur l'hôte. Le choix de ce mollusque bivalve s'est justifié par les faibles connaissances pathologiques d'un coquillage dont l'élevage est en extension.

IV MATERIEL ET METHODES

1. Les methodes histologiques et cytologiques

1.1- Methodes de fixation

1.1.1- Fixations d'organes particuliers

Pour les études histo et cytologiques, les organes sont disséqués sur l'animal vivant : après section des muscles adducteurs antérieurs et postérieurs par un scalpel glissé en force entre les deux valves du coquillage, le manteau de l'une des valves est délicatement décollé par le scalpel en suivant l'impression palléale qui correspond à la zone d'insertion des muscles palléaux sur la coquille. La même opération est répétée pour l'autre valve. Le corps de l'animal est étalé sur un morceau de carton, ou de papier fort, et l'organe choisi (glande digestive, pied, siphon, rein, etc...) est sectionné à la dimension voulue avec une lame de rasoir, prélevé délicatement avec une pince fine, et immergé dans le fixateur.

1.1.2- Fixation de l'animal in toto

Pour des études anatomiques ne nécessitant pas une fixation excellente des tissus, il est intéressant de pouvoir fixer l'animal dans sa coquille pour conserver une intégrité morphologique :

Après avoir glissé un scalpel entre les deux valves de la coquille dans la région ventrale (centrale), on écarte légèrement ces deux valves en faisant pivoter le scalpel tenu entre le médium et l'annulaire de la main, tandis que l'on fait pénétrer de quelques millimètres entre les valves une petite cale de bois (ex allumette) tenue entre le pouce et l'index, l'autre main tenant le coquillage.

On glisse ensuite une seconde cale que l'on fait glisser sur le bord parallèle vers la charnière, de façon à écarter au maximum les valves. On répète l'opération dans l'autre sens avec l'autre cale. La pression exercée par la traction des muscles adducteurs suffit à maintenir les cales en place.

Le coquillage est ensuite immergé totalement dans le fixateur, il faut agiter le récipient très souvent pendant au moins une heure. Quand les tissus ont acquis une certaine dureté au bout de trois à quatre heures, on peut débarasser l'animal de ses valves. On peut être aidé en cela par la présence d'acide dans le fixateur, qui, en dissolvant partiellement le carbonate de calcium, permet aux muscles adducteurs de se détacher plus facilement lorsque l'on glisse le scalpel entre le manteau et la coquille.

1.2- Fixation et inclusion

1.2.1- Microscopie optique

Divers fixateurs classiques ont été employés et comparés à un fixateur plus spécialement créé pour le matériel marin et couramment employé par le laboratoire de Pathologie de Sète : Le fixateur de Davidson.

Le fixateur de Bouin : c'est un bon fixateur topographique pour la palourde, mais demandant un lavage prolongé pour l'élimination de l'acide picrique excédant.

Le fixateur de Carnoy : classiquement, seules les structures nucléaires sont bien conservées et il n'a été employé que dans ce but.

Le fixateur de Gendre : il n'a été utilisé que pour

la mise en évidence, avec succès, du glycogène. Nous avons noté une réaction de fuite du glycogène qui doit être imputée à notre mode de fixation "in toto" de l'animal.

Le fixateur de Zenker : il n'a été employé qu'à titre comparatif avec le Davidson. Nous avons observé une fixation et une conservation comparable des tissus avec un léger avantage pour la fixation des hémocytes dont les structures cytoplasmiques, particulièrement les granules des granulocytes, étaient très bien conservées. Le seul inconvénient était le lavage prolongé pour l'élimination du Bichromate de potassium en excès.

Malgrès ces lavages prolongés, et le traitement à l'iode, il nous est parfois arrivé de retrouver quelques cristaux de $K_2Cr_2O_7$ sur les croupes. Ceci est lié au mode de fixation: nous fixons en effet généralement le corps de l'animal en entier ce qui permet de conserver une morphologie à peu près identique à celle de l'animal vivant. Si l'animal est disséqué avant la fixation, les contractions musculaires déforment excessivement la position des organes, ce qui complique le positionnement des tissus à l'inclusion en parafine.

Le fixateur de Davidson (formule page 25) : sa facilité d'emploi et sa polyvalence nous l'ont fait choisir comme fixateur de base lors de cette étude. Il pénètre très vite et semble très bien s'accomoder des tissus musculieux de la palourde. La présence d'acide permet une bonne conservation des noyaux et nous avons pu effectuer sans problème la coloration à l'Azan ou la réaction de Feulgen.

Il présente l'avantage de ne nécessiter qu'un lavage très rapide avant la deshydratation. Il a été également employé comme fixateur avant dissection pour l'étude anatomique des animaux car il n'opacifie presque pas et conserve la coloration naturelle des tissus.

Les animaux fixés sont deshydratés "in toto", ou après dissection des organes choisis, dans l'Ethanol à 70°, 95° et 100° (2bains) puis placés dans le Butanol ou le Toluène (2bains) avant préinclusion en paraffine (paraplast) pendant 48 heures à 58° - 60°C (2 bains). L'inclusion se fait en Paraplast à l'aide des barres de LEUCKART. Le Butanol possède l'avantage de pouvoir conserver les pièces fixées très longtemps, en attente.

Les coupes (de 5 à 8 μ) ont été faites sur microtomes Reichert, étalées à l'eau distillée et sans collage sur lames histologiques et séchées à température ambiante (18 à 24°C).

Les coupes ont été observées sur microscope optique Reichert ou Olympus.

1.2.2- Microscopie électronique

Pour la microscopie électronique, de petites pièces de tissus de quelques millimètres ont été classiquement fixées au Glutaraldéhyde puis recoupées en blocs de 2 à 3 mm et post-fixées au tétroxyde d'osmium.

Les formules des divers fixateurs et tampons et le protocole de fixation sont donnés page 25.

La deshydratation s'effectue dans différents bains d'alcool croissant puis en oxyde de propylène :

Alc. 30°	15 mm
Alc. 50°	15 mm
Alc. 70°	15 mm
Alc. 95°	15 mm
Alc. 100°	3 x 15 mm
Oxyde de propylène	2 heures minimum

Les inclusions ont été réalisées en Epon ou en Araldite suivant la préparation et le protocole suivant :

1) Agiter énergiquement avec une barre de verre pendant 10 mn, le mélange :

Araldite	1 vol
Durcisseur (HY 964)	1 vol
Flexibilisateur (Phtalate de Dibutyle)	1/20

Ajouter l'accélérateur
(DY 064) 1/40 vol

Agiter pendant 15 mn.

2) Passer les pièces deshydratées dans :

Les bains intermédiaires suivants :

Oxyde de propylène + araldite (2 vol/1 vol)	1 heure
Oxyde de propylène + araldite (1 vol/1 vol)	1 heure
Oxyde de propylène + araldite (1 vol/2 vol)	1 heure

3) Préinclusion en araldite à température ambiante pendant 48 heures.

4) Inclusion en araldite : 96 heures à 48°C.

Les coupes semi-fines et fines ont été effectuées avec un Ultramicrotome Sorvall "Porter-Blum" MB-1.

Les coupes fines ont été observées sur microscopes Philips et Jeol.

1.3- Colorations

En microscopie photonique, aussi bien pour les études anatomiques ou parasitaires, que pour l'observation des modifications histologiques ou cytologiques expérimentales, nous avons utilisé des colorations d'histologie générale et quelques colorations spécifiques aux organismes ou matériel à mettre en évidence.

1.3.1- Les colorations d'histologie générale

1.3.1.1- L'Azan de Heidenhain

Elle a été utilisée en histologie et pour les descriptions anatomiques (Cf première partie). L'Azan colore vivement les noyaux hémocytaires, ce qui permet un rapide repérage des vaisseaux sanguins.

1.3.1.2- Coloration à l'Hemalun-Orangé - G.Vert Lumière

Elle a été souvent employée, car elle est très rapide d'emploi. Les noyaux apparaissent brun clair et les autres structures se partagent les colorant orangé ou vert suivant leur acidophilie. C'est une coloration très pratique en histologie générale.

1.3.1.3- Hemalum-Eosine

Nous l'avons peu employée. Elle ne semble intéressante que pour le dépistage des parasites de nature microbienne (unicellulaires ou plasmodiaux), la reconnaissance de ceux-ci se faisant souvent grâce à la forme ou à la position du matériel nucléaire. L'utilisation d'un bon colorant de la chromatine et d'un faible colorant cytoplasmique est alors intéressante. Cette coloration est couramment employée en routine par l'un des laboratoires de Pathologie de l'ISTPM. On peut toutefois remarquer que le trichrome précédent, si la coloration au vert lumière est légère, permet d'obtenir le même résultat.

1.3.2- Les colorations spécifiques

1.3.2.1- La réaction de Feulgen

Après fixation au Davidson, une hydrolyse acide à 60°C (HCL 1 N) pendant 8 minutes est suffisante pour obtenir une bonne coloration des noyaux par le réactif de Schiff. Bien que la coloration ne soit pas aussi intense que sur du matériel fixé au Carnoy, elle est bien visible. Avec une légère contre coloration à l'acide picrique nous avons pu observer facilement des plages de Rickettsies ou des plasmodies d'Haplosporidie dont le fin matériel nucleoproteique était coloré par le réactif de Schiff.

1.3.2.2- Reaction à l'acide Périodique-Schiff.

Nous avons utilisé cette réaction pour la mise en évidence des mucopolysaccharides, du glycogène et des proteoglycanes après fixation au Carnoy, au Gendre ou au Davidson.

Nous avons également procédé à la mise en évidence exclusive du glycogène par blocage au Dimedon des aldéhydes réactifs (après oxydation par l'acide périodique). Le traitement

au Dimedon (Diméthyl-5,5-cyclohexanedione-1,3) à 5% dans l'alcool absolu, dure 3 heures à 60°C. Selon GABE, seuls les groupements aldéhydes dérivés du glycogène gardent leur réactivité.

Dans tous les cas un contrôle par digestion enzymatique est nécessaire (lame réhydratée traitée par la salive filtrée pendant 60 minutes à 37°C).

1.3.2.3- Réaction du Bleu Alcian à pH acide.

Nous avons utilisé le Bleu Alcian à 1% dans HCL 0,1N (pH1) pour la mise en évidence des mucopolysaccharides acides. Nous avons parfois complété cette réaction par celle à l'acide périodique-Schiff.

1.3.2.4- Fluorescence

Nous avons utilisé les fluorochromes Acridines Orange¹ et Dapi² (4', 6-Diamidino-2-Phénylindole) à pH acide pour la mise en évidence de l'ADN, notamment dans les formes microbiennes parasites de la palourde

- (1) KURSTAK, E., GORING, I., GARZON, S. et COTE, J-R. -1968- Etude de la densonucléose de Galleria mellonella L. (Lepitoptera) par les techniques de fluorescence. Naturaliste Canadien, 95, p. 773-783. (Solution d'Acridine orange à 0,01 % à pH 3,8 pendant 5 minutes).
- (2) RUSSEL, W.C., NEWMAN, C. et WILLIAMSON, D.H. -1975- A simple cytochemical technique for demonstration of DNA in cells infected with mycoplasmas and viruses. Nature, 253, p. 461-462 (Solution de D.A.P.I. à 0,1 mg/l pendant 20 minutes à 37° c).

Tableau 1, Formule des fixateurs couramment employés.

Fixateur de Davidson

-Eau de mer filtrée	1200 ml
-Ethanol à 95°	1200 ml
-Formol à 40%	300 ml
-Glycérol	400 ml
-Ajouter 10% d'acide acétique extemporanément.	

Fixateur pour la microscopie électronique et protocole

1- Fixation au glutaraldéhyde (1 H à 24 H à 4° C)

-Glutaraldéhyde à 12%	1 vol
-Tampon cacodylate 0,4 M	1 vol
-NaCl à 7%	1 vol
-Eau distillée	1 vol
(Pression osmotique finale vérifiée : 1200 m osm et ph 7,4)	

2- Lavage (1 H à 24 H à 4° C)

-Tampon cacodylate 0,4 M	1 vol
-NaCl à 4%	1 vol

3- Postfixation (1 H)

-OsO ₄ à 2%	2 vol
-Tampon cacodylate 0,4 M	1 vol
-NaCl à 10%	1 vol

4- Lavage (1/2 H à 1 H)

-Tampon cacodylate 0,4 M	1 vol
-NaCl à 4%	1 vol

1.3.2.5- Coloration de Mann-Dominici

C'est la coloration la mieux adaptée à la mise en évidence des bactéries dans le tractus digestif. Les bactéries prennent une couleur bleue foncée qui se détache aisément des tissus rose-orangé. Les sécrétions muqueuses ont une couleur violacée. Le temps à surveiller est la différenciation dans la solution d'acide acétique. Mais les bactéries se décolorent moins vite que les noyaux, et une coupe trop pâle sera néanmoins lisible.

2. Matériel et méthodes expérimentales

2.1 Matériel

2.1.1 Aquariologie :

Les animaux pêchés ou prélevés à la station de purification de Sète, sont mis en attente en eau de mer courante dans des bacs en plastique de 50 litres. Un jour avant le début de l'expérience, ils sont placés en aquarium de verre de 8 litres remplis de 5 ou 6 litres d'eau de mer. Les animaux ne siphonnant pas sont écartés. Un bulleur maintient le taux d'oxygène de l'eau de 7 à 8 mg/l.

L'aquarium expérimental contient 20 à 60 palourdes et l'aquarium témoin, une dizaine.

Après ensemencement des bactéries dans l'eau de l'aquarium expérimental, un couvercle est placé dessus pour éviter les projections dues au bulleur ; celui-ci assure par ailleurs l'homogénéisation du milieu.

2.1.2. Etuves et matériel bactériologiques

Les étuves bactériologiques thermostatés à 37° du laboratoire des contrôles de l'ISTPM de Sète ont été utilisées pour les cultures bactériennes de Escherichia coli et Micrococcus marina. Les milieux liquides étaient stérilisés par autoclavage (60 minutes à 115°C). Les cultures bactériennes ont été effectuées en milieu liquide dans des Erhlenmyer de 800 cc à 400 cc bouchés par du coton et encapuchonnés de papier aluminium, ou sur milieu solide coulé en boîte de Petri.

2.2 Les cultures bactériennes

La souche d'Escherichia coli (cc 185) fournie par le laboratoire des contrôles de l'ISTPM de Sète a été repiquée sur plusieurs tubes de géloses nutritive gardés ensuite au réfrigérateur.

Les cultures ont été faites sur milieu liquide au Bromo-Crésol pourpre lactosé, stérilisé,ensemencé à l'aide d'une oese introduite précédemment dans les tubes de repiquage pour grattage des colonies d'E. coli, puis placé pendant 48 heures à l'étuve à 37°C.

Le milieu au Bromo-Crésol pourpre vire du violet au jaune en présence d'acide lactique ce qui atteste la présence de E. coli grâce à la visualisation de la métabolisation du lactose.

La souche de Micrococcus marina, bactérie isolée du milieu marin, fournie par le laboratoire de pathologie comparée de l'USTL de Montpellier, a été repiquée sur gélose nutritive et cultivée sur milieu de Rothe, à 37°.

Certaines recherches qualitatives de E. coli ont été effectuées sur gélose Eosine-Bleu de Méthylène.

Les colonies d'E.coli présentent alors un aspect caractéristique : couleur violet foncé avec un reflet métallique verdâtre (en "dos de scarabée") et diamètre de 2 à 3 mm.

2.3 Les numérations bactériennes

Les numérations de E. coli en eau de mer ont parfois été effectuées par ensemencement de 3 dilutions différentes (ex : 0,1; 0,01 ; 0,001) sur 3 séries de 3 tubes (9 tubes) au B.B.V. (bile-vert-brillant) selon la technique préconisée par l'AFNOR, avec dénombrement des tubes positifs (production d'indole) et comparaison avec les tables de Mc GRADY pour la lecture du N.P.P. (Nombre le Plus Probable) de bactéries.

Mais à cette méthode un peu longue et peu précise, nous avons préféré le comptage direct des bactéries sur cellule de Thomas, après dilution au 1/1000e ou au 1/10.000e. Cette méthode avait l'avantage de nous donner le résultat directement. Cette technique était possible avec la souche E. coli employée, non mobile, permettant une lecture facile à l'objectif 40 du microscope, malgré les mouvements Browniens qui ont parfois pu nous faire compter deux fois la même bactérie si celle-ci était en limite de deux cases.

2.4 Le protocole expérimental

Avant l'emploi, les bactéries sont débarassées de leur milieu nutritif par une première centrifugation (2700 tours/minutes pendant 10 minutes), élimination du surnageant, lavage à l'eau distillée, deuxième centrifugation, élimination du surnageant et remise en suspension du culot bactérien dans 50 cc d'eau de mer stérile (autoclavée 60 minutes à 115° c).

En ce qui concerne E. coli, un avantage inattendu de l'utilisation du Bromo-Crésol pourpre est apparue lors de cette remise en suspension en eau de mer. Le pH plus élevé de l'eau de mer (8 à 8,2) provoque le virage au bleu du colorant, dont une bonne partie doit être adsorbé sur les parois bactériennes, conférant ainsi aux bactéries une couleur bleu pâle. Ceci est peu visible sur la solution de bactéries qui n'apparaît que légèrement trouble et bleutée, mais devient particulièrement visible lorsque les bactéries sont concentrées et agglomérées sous forme de fécès et de pseudo-fécès par les mollusques. Nous verrons au chapitre 7 l'avantage que cela peut procurer.

Les 50 cc de solution de bactéries en eau de mer sontensemencées directement dans l'aquarium expérimental et le couvercle replacé immédiatement. Les animaux sont prélevés à différents temps à l'aide de pinces en évitant de perturber les animaux voisins.

Les palourdes prélevées sont placées sur une feuille de papier Joseph, ouvertes et extraites de la coquille puis plongées entières dans le fixateur (5 animaux par piluliers de 100 cc). Les piluliers sont agités fréquemment pour assurer un bon renouvellement du fixateur, dans la partie profonde autour des animaux.

Lorsque les corps ont atteint une bonne rigidité, au bout d'une à deux heures, ils sont placés sur un morceau de carton, ou de papier fort, et découpés à la lame de rasoir dans un plan antéro-postérieur, perpendiculaire au plan sagittal permettant de passer par l'intestin contourné, l'estomac tubulaire et l'intestin récurrent.

Quelques uns des animaux sont coupés dans un plan dorso-ventral permettant de passer par l'estomac utriculaire, l'intestin contourné et l'estomac tubulaire.

Les parties conservées sont ensuite replacées jusqu'au lendemain dans le fixateur.

Compte tenu de la taille des pièces, la déshydratation et l'inclusion prennent 3 à 4 jours.

3. Les paramètres physico-chimiques

3.1 Le pH

Les mesures du pH ont été lues sur un pH-mètre TACUSSEL avec une précision théorique de 5/100e d'unité. Avant chaque mesure, le pH-mètre était étalonné sur milieu tampon à pH 7.

3.3 Salinité

La détermination de la salinité a été effectuée par conductimétrie avec un salinomètre à induction, permettant une précision de mesure au 1/100e d'unité (S ‰).

3.4 Oxygène dissous

Il a été dosé dans l'eau de mer par la méthode de WINKLER.

3.5 Pression osmotique

La pression osmotique a été mesurée sur un micro-osmomètre fonctionnant sur le principe de la cryoscopie (abaissement du point de congélation), mais permettant de travailler avec des volumes de solutions de 0,5 ml, ce qui est très intéressant pour l'étude de l'hémolymphe des mollusques, dont les volumes obtenus sont toujours faibles (AKBERALI, 1980).

V RECHERCHES SUR LA BIOLOGIE DE RUDITAPES DECUSSATUS

Bien que les travaux sur la palourde soient nombreux et variés (Cf. la bibliographie annotée de PARTRIDGE, 1977), nous nous sommes rendus compte que les travaux portant sur l'anatomie et l'histologie sont rares et peu complets.

Nous nous sommes donc attachés à réactualiser ces connaissances en les comparant à nos propres observations, et ceci fait l'objet du premier paragraphe "Rappel des connaissances actuelles".

Nous avons ensuite particulièrement insisté sur des organes dont les études anatomiques et fonctionnelles étaient incomplètes ou inexistantes : le coeur, et particulièrement les branchies dont les fonctions sont primordiales (Cf. Chapitre 7).

Pour le reste des descriptions anatomiques, on pourra se reporter avec intérêt au travail de GALLOIS (1973).

1- Rappel des connaissances actuelles

1.1- Reproduction de la palourde

Ruditapes Decussatus est gonochorique (sexes séparés) mais on trouve quelques cas d'hermaphrodisme, notamment chez les jeunes individus. LUCAS (1969) observe un hermaphrodisme juvénile sur des individus de 10 à 20 mm de long. Il note la présence simultanée d'ovocytes prévitellogénétiques et de spermatocytes ou plus rarement des spermatides et des spermatozoïdes.

Ce phénomène est temporaire et n'atteint jamais les individus adultes qui possèdent toujours des sexes séparés. GALLOIS (1977)

observe un sex-ratio de 48% de mâles et 52% de femelles chez les palourdes de l'étang de Thau.

A- La glande génitale.

C'est une glande acineuse, ramifiée envahissant la masse viscérale, mais pas le manteau. Elle prend la place occupée par les tissus de réserves (principalement du glycogène), ceux-ci devant donc servir principalement à l'élaboration des gonades.

Les tubules gonadiques confluent en gonoductes élémentaires convergeant eux-mêmes vers trois canaux principaux visibles à la surface de la masse viscérale (SILHOL, 1963).

B- Ovogénèse et spermatogénèse.

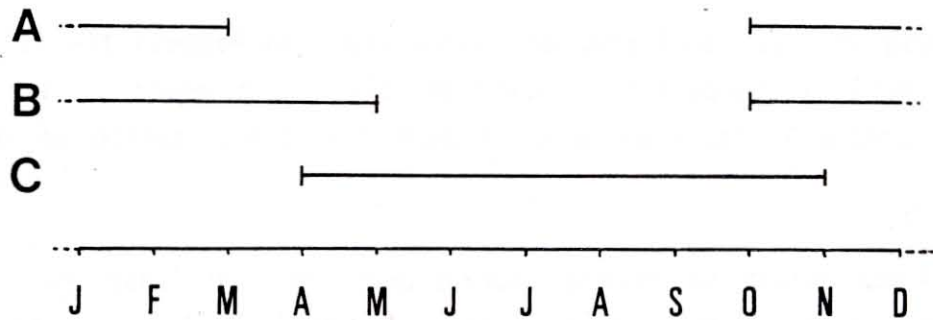
Le processus de maturation sexuelle débute en Janvier ou Février et se termine par l'expulsion des gamètes dans le milieu, en une ou plusieurs fois (pour les individus précoces) durant les mois de juillet, août et septembre. Le seuil thermique d'émission des gamètes semble être 20° C dans l'étang de Thau. Il semble plus probable que ce soit l'amplitude de variation de la température qui joue un rôle sur la gamétogénèse.

Si on reprend l'échelle de maturité (stades A, B et C) utilisée par LUBET (1959) on distingue la chronologie suivante :

-Stade A (Octobre à Mars) : le tissu de réserve a envahi la gonade; on ne distingue aucun gamète.

-Stade B (Octobre à Mai) : opacification de la glande ; les gamètes sont rares.

-Stade C (Avril à Novembre)



-Etape Ca (Avril à Juillet) : la glande génitale a envahi toute la masse viscérale; les ovules pédonculés restent attachés à la paroi du tube gonadique; les spermatozoïdes sont groupés et peu mobiles.

-Etape Cb (Juin à Novembre) : spermatozoïdes et ovules détachés envahissent les lumières des tubules gonadiques.

En résumé

Une période de repos de la glande génitale d'Octobre à Janvier environ, mise à profit pour accumuler des réserves glycogéniques

Une période de ponte de Juin à Septembre, pouvant commencer en Mai pour les individus précoces et conditionnés par la température de l'eau (environ 20° C dans l'étang de Thau).

1.2- Le système nerveux

Il est composé de trois paires de ganglions que l'on peut observer sur la coupe d'une palourde fixée et disséquée, si l'on a la chance de passer exactement dans le plan sagittal (Planches 2 et 4) :

-Les ganglions cérébro-pleuraux, situés au dessus de la bouche, reliés entre eux par une commissure passant au dessus de l'oesophage. Chaque ganglion innerve la partie antérieure du manteau et le muscle adducteur antérieur.

-Les ganglions pédieux fusionnés et situés juste au dessus de la masse musculaire, sont reliés aux précédents par deux connectifs cérébro-pédieux périoesophagiens passant derrière les muscles rétracteurs antérieurs du pied

-Les ganglions viscéraux, les plus importants en taille sont situés entre deux lobes du rein, accolés aux muscles rétracteurs postérieurs du pied. Ils sont fusionnés et envoient de nombreux nerfs vers divers organes. En avant, on distingue deux gros nerfs se dirigeant dorsalement vers la ligne d'insertion des deux branchies sur le corps (nerfs branchiaux) ; deux nerfs plus petits partent ventralement vers la masse viscérale. Postérieurement, deux nerfs se dédoublent presque immédiatement pour innerver le muscle adducteur postérieur et les siphons. Les ganglions cérébro-pleuraux et les ganglions viscéraux sont reliés par deux fins connectifs traversant le corps dorsalement en passant sous la péricarde et de part et d'autre de l'estomac, à travers la glande digestive.

La structure de ce système nerveux est typique des Pélécypodes et correspond bien à ce que PURCHON (1977) a décrit sur d'autres bivalves fouisseurs.

1.3- Les organes sensoriels

FRENKIEL (1980) a récemment fait un bilan des recherches sur les organes sensoriels de certains lamellibranches. Les organes connus sont : les statocystes, les récepteurs tactiles et visuels des tentacules palléaux ou siphonaux et d'autres récepteurs dont la fonction n'est pas définie (mécano ou chémo-récepteurs).

Les statocystes sont au nombre de deux et placés au contact des ganglions pédieux. Ils contiennent un statolithe ou des statocories. Le statocyste contient des cellules réceptrices à micro-villosités apicales et pourvues de cinétocils.

Le contact du statolithe sur les cils provoquerait une stimulation ou une inhibition selon l'orientation du pied basal du cinétosome du cil.

Les tentacules palléaux portent à leur extrémité, des cils sensoriels protégés par une dépression apicale du tentacule. Le rôle de ces cils n'est pas connu.

Les tentacules oculaires sont toujours associés à des tentacules tactiles. Chez Cerastoderma edule, également bivalve fouisseur, ces tentacules sont situées à la base des siphons. Les cellules réceptrices réagissent à l'assombrissement (réponse de type "OFF").

Nous avons pu noter que Ruditapes decussatus placé en aquarium (et non enfoui) réagissait aux stimuli lumineux par une rétraction partielle ou totale des siphons (interposition brutale d'un objet opaque devant une lumière vive ou éclair d'un flash électronique).

D'autre part, on observe également une rétraction des siphons à tout ébranlement du milieu, ce qui semblerait indiquer la présence de mécano-récepteurs.

1.4- Appareil digestif et alimentation

1°) Introduction

Différents organes, bien que n'appartenant pas au tube digestif proprement dit, interviennent dans le processus de nutrition de l'animal : siphons, branchies et palpes labiaux.

2°) Siphons

L'animal enfoui, les siphons sont les seuls organes qui assurent la continuité entre le milieu externe et le milieu intervalvaire. Grâce à ses deux couronnes de tentacules, le siphon inhalant assure un filtrage grossier des éléments susceptibles de pénétrer dans la cavité intervalvaire ; ces éléments sont attirés par le courant d'eau crée par les épithéliums ciliés tapissant les branchies, le manteau ainsi que la partie distale du pied.

Le siphon exhalant est chargé d'éliminer, outre les déchets filtrés par le rein, les fécès débouchant du cloaque sous le muscle adducteur postérieur, portés par le courant d'eau ayant traversé la partie distale du feuillet réfléchi externe (fig. 1, pl. 3).

3°) Branchies

Comme nous le verrons plus loin, les branchies, sont un excellent système de filtration, arrêtant les particules jusqu'à $0,25 \mu$, et les transportant, via la gouttière marginale de chaque feuillet, vers les palpes labiaux.

4°) Palpes labiaux

Ils affectent la forme de deux feuillets plissés situés au dessus et au dessous de la bouche et entourant la base antérieure des lames branchiales, collectant les particules en suspension véhi-

culées par les quatre gouttières marginales des lames branchiales. FORSTER-SMITH (1975) a particulièrement étudié le rôle des palpes labiaux dans la collecte des particules alimentaires et le rejet des pseudo-fécès.

5°) Tube digestif (fig 1, pl 4)

5.1- L'oesophage

Relativement court, 0,9 cm pour une palourde de 5 cm, il fait suite aux palpes labiaux et débouche dans la partie antérieure et dorsale de l'estomac. L'épithélium cilié comporte de nombreuses cellules muqueuses dont la principale fonction est d'enrober de mucus et ainsi faciliter le transfert des particules alimentaires vers l'estomac (MARQUES, 1952).

5.2- L'estomac

Il est formé de deux parties : l'estomac utriculaire de forme arrondie où débouchent l'oesophage et les canaux principaux des diverticules digestifs, et l'estomac tubulaire séparé longitudinalement en deux par les typhlosolis majeur ventral et mineur dorsal. Le typhlosolis majeur contient le stylet cristallin, celui-ci venant s'appuyer en tournoyant sur lui-même sous l'effet de puissantes cellules ciliées, sur le bouclier gastrique dans la partie dorsale de l'estomac utriculaire ; il opère ainsi un triturage (action physique) et une digestion (action chimique) des particules alimentaires grâce aux nombreuses enzymes libérées dans sa lente dissolution. La présence d'enzymes digestives dans le stylet cristallin (Mc HENERY 1979) ou le bouclier gastrique (ARNOULD, 1978) des bivalves marins est un fait bien démontré. Il faut remarquer que l'activité enzymatique du bouclier gastrique est supérieure à celles du stylet cristallin ou de la glande digestive.

5.3- L'intestin contourné

Cette portion de l'intestin, faisant suite à l'estomac tubulaire, effectue quelques circonvolutions en remontant vers la masse des diverticules digestifs ; en outre, on observe en coupe, que cette portion de l'intestin affecte une forme assez tourmentée. Ceci a pour effet d'augmenter la surface épithéliale en contact avec le bol alimentaire. Cet épithélium comporte des mucocytes mais en faible nombre. Les cellules sont hautes, étroites, avec un noyau comprimé situé aux 2/3 inférieurs ; la partie apicale comporte une bordure en brosse et toutes les cellules sont ciliées. Cet épithélium est très fréquemment infiltré de phagocytes, cellules à noyau petit et rond souvent comprimé et déformé par la présence d'inclusions cytoplasmiques verdâtres parfois énormes.

MARQUES (1952) associe à l'intestin contourné de Ruditapes decussatus une fonction d'absorption de l'eau contenue dans le bol alimentaire, le transformant ainsi en une masse de plus en plus compacte.

MARQUES, qui remarque la présence de cellules sécrétrices (d'enzymes?), envisage également la possibilité d'une absorption des résidus d'une digestion extracellulaire. PURCHON (1977) estime que l'intestin contourné possède une fonction de consolidation des fécès afin que ceux-ci, une fois évacués par le siphon exhalant, ne puissent être repris dans le courant d'eau inhalant. Il semble plus probable, tout du moins en ce qui concerne la partie proximale de ce que PURCHON appelle "Mid-Gut", et qui correspond à l'intestin contourné proprement dit, qu'une fonction d'absorption intervienne. Plusieurs arguments permettent de le supposer :

1°) L'intestin effectue dans cette partie, des circonvolutions importantes dans un volume de corps réduit, augmentant le transit du bol alimentaire.

2°) Pour une même longueur, le diamètre de l'intestin contourné est supérieur à celui de l'oesophage, de l'intestin récurrent ou du rectum par exemple. Ceci combiné à des replis importants de l'épithélium augmente la surface de contact de ce dernier avec le bol alimentaire.

3°) La majeure partie de cet épithélium possède une bordure en brosse caractéristique des cellules d'absorption.

4°) On note en outre une proportion importante d'hémocytes dans le tissu conjonctif lâche sous-jacent à l'épithélium intestinal. Ceci dénote des échanges importants entre milieu intérieur et lumière intestinale.

5.4- La glande digestive (fig. 3, pl. 3)

Conduits principaux

Occupés en grande partie par le typhlosolis majeur, les conduits principaux, au nombre de 2 sont chargés d'amener les particules alimentaires vers les tubules digestifs. Le typhlosolis bordé de cellules ciliées évacue les particules alimentaires vers l'estomac tubulaire, le courant sortant créé étant compensé par un courant inhalant transportant les particules alimentaires vers les tubules digestifs (PURCHON, 1977).

Conduits secondaires

Ils sont la ramification du conduit principal. Le diamètre inférieur des conduits secondaires, proche de celui des diverticules digestifs, permet physiquement un tri des petites particules alimentaires, les grosses retombant dans la gouttière du typhlosole et rejoignant l'estomac (PURCHON, 1977).

Tubules digestifs

Les tubules digestifs, ramifiés autour des conduits secon-

daires, se terminent en "cul de sac". Ils sont entourés d'un tissu conjonctif mince et lâche (peu de fibres collagènes) et baignés par des lacunes sanguines où circulent de nombreux hémocytes. Sur coupe on observe deux types de cellules, sur un conduit légèrement aplati (fig. 3, pl.3).

Cellules digestives

Elles occupent la majeure partie du tubule. Hautes (rapport hauteur/diamètre = 5 à 8), elles présentent à la partie apicale de nombreuses micro-villosités hautes de 2μ de long et $0,1 \mu$ de diamètre, signe d'absorption importante. Le noyau est situé vers la membrane basale.

PAL (1971 et 1972) et OWEN (1970) ont respectivement étudié l'ultrastructure des cellules digestives (et sécrétrices) des tubules digestifs de Mya arenaria et Cardium edule (= Cerastoderma edule). Ces études associées à nos observations sur Ruditapes decussatus permettent de dire qu'il existe une certaine unité fonctionnelle chez ces bivalves fouisseurs. On discerne, en phase digestive des vacuoles de tailles variables (les plus larges apparaissant très bien en microscopie photonique) dénommés "macrovésicules" par OWEN et "spères digestives" par PAL.

Chez Ruditapes decussatus, on note une importante interpénétration des cellules dans leur partie apicale, ce qui implique un réseau de desmosomes particulièrement ramifié et dense, gage d'une bonne cohésion de l'épithélium digestif. En même temps, ce dispositif permet des échanges intercellulaires importants. Entre ces replis membranaires, on observe la présence de nombreuses mitochondries. Dans le cytoplasme, on retrouve les éléments constitutifs classiques d'une cellule : noyau, mitochondries, réticulum endoplasmique peu développé et appareil de Golgi.

Le noyau est large, la chromatine peu condensée, et l'on distingue un ou deux nucléoles de petite taille.

-Cellules sécrétrices ou basophiles :

Situées aux deux extrémités du tubule digestif de forme oblongue (fig. 3, pl. 3), les cellules sécrétrices présentent toutes les caractéristiques des cellules impliquées dans les phénomènes de synthèses proteique (photo 4, pl. 12) :

- Noyau à chromatine décondensée
- Nucléole volumineux
- Réticulum endoplasmique très développé
- Nombreuses mitochondries
- Cytoplasme granuleux dense, riche en ribosomes.

Ces observations confirment également celles de OWEN (1970) chez C.edule, et de PAL (1971) chez Mya arenaria.

6°) Conclusions

Nos observations confirment qu'il existe une unité de structure et de fonction des organes impliqués dans les phénomènes digestifs, et notamment de la glande digestive, chez les mollusques bivalves fouisseurs.

2- Recherches anatomiques et histologiques particulières

Certains organes, dont on croit connaître la structure anatomique et histologique simplement par extrapolation à partir de connaissances générales établies lors de l'étude d'animaux proches de la palourde, méritent néanmoins une étude particulière, à cause de leur fonction. Ainsi les connaissances exposées par certains auteurs (SILHOL, 1963 ; GALLOIS, 1973) sur la structure des branchies de Ruditapes decussatus étaient imparfaites ou fausses car extrapolées des études d'ATKINS relatives à d'autres mollusques bivalves.

2.1- Le coeur et son fonctionnement (planche 5)

La seule structure facilement discernable dans le système sanguin d'une palourde disséquée vivante, ou mieux, fixée, est l'appareil cardiaque (oreillettes, ventricule, bulbe aortique). NARAIN (1976) a fait une revue de la structure et de la fonction cardiaque chez les bivalves. Nous avons nous mêmes essayé de comprendre le principe et interpréter le fonctionnement du système circulatoire sanguin (notamment du système cardiaque) grâce à l'analyse conjointe de coupes histologiques transversales, horizontales et verticales, et de dissections d'organes d'animaux vivants et fixés.

2.1.1- Présentation

Le système circulatoire de la palourde est ouvert, formé d'espaces ou de sinus étroitement solidaires du tissu conjonctif, prolongeant des vaisseaux afférents et aboutissants à des vaisseaux efférents.

Le coeur, constitué d'un ventricule et de deux oreillettes, propulsent l'hémolymphe dans deux aortes, antérieure et postérieure. L'aorte antérieure, qui passe au dessus du rectum traversant le coeur (voir fig. 3 ; pl 5), irrigue les muscles antérieurs adducteurs des valves et rétracteurs du pied ainsi que la masse viscérale.

L'aorte postérieure, prolongeant le bulbe aortique, passe sous le rectum, et irrigue principalement les muscles postérieurs adducteurs des valves et rétracteurs du pied, ainsi que les siphons et le manteau. Selon GRASSE (1970), l'hémolymphe des différents organes est collecté dans un sinus veineux ventral puis épuré dans le rein avant d'être envoyé dans les branchies.

2.1.2- La cavité péricardique.

A l'examen de dissection d'animaux fixés (photo 4, pl.11 et fig.1, pl.5), on observe qu'elle est délimitée par un épithélium fin, et bordée antérieurement par la masse viscérale, ventralement par le rein, latéralement par les feuillets réfléchis des lames branchiales externes et postérieurement par les muscles rétracteurs du pied. Selon NARAIN (1976), cet arrangement assure à la cavité péricardique un volume constant et une rigidité suffisante à la fonction cardiaque. Toujours selon NARAIN, et d'autres auteurs cités, le prélèvement ou l'incision du tissu péricardique perturbe le remplissage des oreillettes et le rythme cardiaque. Nous avons effectivement pu constater une arythmie, voire un arrêt du coeur après une simple incision du péricarde chez Ruditapès decussatus ainsi que chez les huîtres (Ostrea edulis, Grassostrea gigas) et la coquille Saint-Jacques (Pecten maximus).

2.1.3- Le coeur.

Baignant entièrement dans la cavité péricardique, le coeur

est constitué d'un ventricule flanqué de deux oreillettes collectant le sang oxygéné, provenant des branchies. Le ventricule est épais, comportant deux noeuds ventraux situés près des valves auriculo-ventriculaires, et irradiant des fibres musculaires dorsalement et postérieurement. Sa structure histologique est simple (voir fig.2, pl.5). On observe un épithélium, prolongeant la fine assise épithéliale des oreillettes, et où viennent s'insérer des fibres musculaires de disposition apparemment anarchique, sur coupe. Il n'y a pas d'endothélium.(voir aussi photo 5, pl.11).

Comme nous l'avons vu plus haut, le péricarde délimite une chambre de volume constant. Lors de la contraction du ventricule, diminuant le volume ventriculaire, une quantité de liquide égale pénètre passivement par succion dans les oreillettes, dont le fin tissu n'offre aucune résistance mécanique (voir fig.). Ce système ne peut être efficace que si le péricarde résiste à la pression négative engendrée dans la cavité péricardique par la systole ventriculaire. C'est pour cette raison que le péricarde est si intimement lié aux organes voisins. C'est également pour cette raison que la moindre incision du péricarde engendrant une fuite du liquide péricardique, provoque une disharmonie du fonctionnement cardiaque.

2.1.4- Les valves cardiaques.

a) La valve aortique postérieure est située entre le ventricule et le bulbe aortique. Elle est constituée d'une languette épaisse relativement longue prenant naissance dans le tissu cardiaque entre le bulbe et le ventricule, et dont l'extrémité vient s'appliquer sur le rectum, situé dorsalement à ce niveau (voir fig. 4, pl. 5).

Sur coupe histologique cette languette apparait musculeuse, formée de fibres musculaires longues et serrées.

La contraction de ces fibres doit être synchronique de celle du bulbe aortique permettant ainsi une parfaite obturation de la valve empêchant le reflux du sang vers le ventricule.

b) Les deux valves auriculo-ventriculaires, de section étroite sur coupe histologique, sont formées d'un épithélium fin, prolongeant l'épithélium auriculaire et cardiaque et reposant sur un tissu conjonctif épais dépourvu de musculature. Ce tissu conjonctif est riche en fibres serrées, orientées perpendiculairement à l'axe de la valve, assurant un bon maintien des tissus face à la pression systolique.

Cette valve est prolongée dans sa partie distale par des fibres musculaires. L'indépendance des tissus de la valve vis à vis de la musculature adjacente (fig.2, pl.5) permet à ceux-ci de s'appliquer passivement l'un contre l'autre par le simple jeu de la pression hydrostatique lors de la systole ventriculaire, la contraction des fibres musculaires distales empêchant les lèvres de la valve de s'inverser et de passer dans les oreillettes. Ce système simple fonctionne à l'image du "bec de canard" des détenteurs à un étage des bouteilles d'air comprimé de scaphandre autonome.

2.1.5- Le bulbe aortique (photo 5, pl.11).

Séparé du ventricule par la valve aortique postérieure, il est situé sous le rectum et se prolonge par l'aorte postérieure. A l'instar du ventricule, il est situé intégralement dans la cavité péricardique. Il est formé d'un tissu épais bordé par un épithélium pavimentaire faisant suite à l'épithélium ventriculaire. On retrouve en fait une structure identique à celle du ventricule (fig.4, pl.5).

Discussion sur la fonction du bulbe aortique :

Diverse fonctions de cet organe ont été proposées
(in NARAIN 1976) :

1- Extension des siphons par contraction et engorgement

sanguin de leurs tissus (HESCHELER, 1900)

2- Stockage des hémocytes.

3- Organe de sécrétion (HERSH, 1956).

4- Fonction de prévention d'un retour du sang au ventricule durant la diastole, mais nous avons vu que chez Ruditapes decussatus ce rôle est assuré par une valve.

5- Organe hématopoïétique (HERSH, 1956 ; ANDREWS, 1965 ; NARAIN, 1973).

Cette dernière hypothèse si elle était vérifiée, répondrait à l'importante question de l'hématopoïèse chez les mollusques ; malheureusement toutes ces hypothèses n'ont pu être vérifiées expérimentalement.

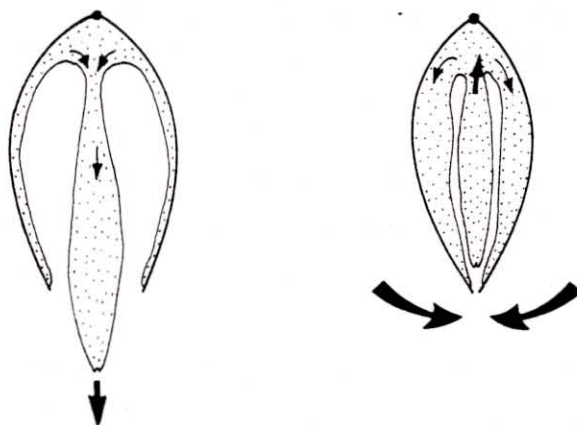
En ce qui concerne Ruditapes decussatus, la structure histologique du bulbe, nous ferait pencher pour la première hypothèse.

La quatrième hypothèse est celle avancée par BRAND (1972, in NARAIN, 1976) après observation de représentants de la famille des Veneridae (entre autres) où le bulbe est bien développé. BRAND pense que pendant la rétraction des siphons, le sang est vraisemblablement repoussé vers le bulbe, ce qui affecterait le mécanisme hydrodynamique du coeur et empêcherait ou réduirait le passage du sang dans le coeur.

Pour notre part, sans préjuger de la véracité de cette hypothèse, nous pouvons préciser qu'il semble exister un moyen efficace d'absorber l'hémolymphe refluee brutalement des siphons lors de leur rapide retraction. Nous avons observé, en effet, que lorsque

l'on prélève en aquarium un animal présentant des siphons bien étendus et qu'on l'ouvre juste après rétraction des siphons, on note des épaissements importants du manteau autour des muscles rétracteurs des siphons. Après incision de ces "poches" on observe un écoulement d'hémolymphe. Il s'agit vraisemblablement de l'hémolymphe présente dans les siphons lors de leur turgescence et reflue brutalement vers le manteau, dont l'élasticité du tissu conjonctif lâche sous-épithélial, permet des variations de volume relativement importantes.

Il semble donc que le manteau, riche en lacunes sanguines et pauvre en musculature, outre un rôle probable dans les échanges avec le milieu, joue un rôle non négligeable dans la dynamique de la circulation de l'hémolymphe en absorbant la surpression sanguine occasionnée par la rétraction des siphons ou du pied par exemple. Il se produirait un équilibre constant des pressions internes occasionnées lors de l'extension ou de la rétraction des différents organes par passage de l'hémolymphe vers les organes où la pression interne est plus basse, le volume global de l'hémolymphe restant constant.



Ceci confirmerait l'hypothèse de CHAPMAN (1969, in NARAIN 1976), selon laquelle les principaux mouvements sanguins seraient dûs à la contraction de la musculature bien développée du corps.

Il est probable que la turgescence, lente, des différents organes susceptibles de dilatation importante (siphons, pied, et pour une moindre importance les branchies) se fasse sous l'action de la contraction cardiaque et du bulbe aortique. La lente turgescence des organes est d'ailleurs en accord avec le faible débit cardiaque. Par contre la rétraction de ces organes par contraction brutale de leurs muscles rétracteurs et de leur musculature propre, assurent une "chasse" du sang vers le manteau, peu musculeux, susceptible de dilatation importante et capable de stockage temporaire de quantités importantes d'hémolymphe. L'animal, valve fermée et en sécurité, peut ensuite répartir plus lentement son volume sanguin dans les divers organes par le simple jeu de la circulation cardiaque, et par pompage de l'hémolymphe du manteau via le sinus veineux, le rein et les branchies.

2.1.6- Hémolymphe et hémocytes.

L'hémolymphe des mollusques véhicule des hémocyanines libres, protéines extracellulaires contenant du cuivre, de poids moléculaire variant de 400 000 à 9 000 000 Daltons. Chaque polymère est composé de sous-unités ayant un poids moléculaire de 350 000 Dalton avec deux atomes de cuivre pour 50 000 Dalton environ (BONAVENTURA et coll., 1975).

Chez Ruditapes decussatus, nous avons constaté que le pH de l'hémolymphe varie de 7 à 7,05 ; et est donc inférieur au pH moyen de l'eau de mer (environ 8).

La coloration classique d'un frottis d'hémolymphe par les colorants de MAY-GRUNWALD et GIEMSA (40 minutes à pH 7), nous a permis de constater la présence de deux types prépondérants d'hémocytes :

-Une grande cellule à gros noyau et cytoplasme coloré en bleu pâle contenant des granulations réfringentes incolores ou parfois roses, que l'on peut appeler granulocyte.

-Une petite cellule, à petit noyau à chromatine condensée entourée d'un cytoplasme hyalin coloré en bleu : le hyalinocyte.

Avec la coloration à l'acide périodique SCHIFF après blocage au Dimedon, on ne trouve pas de glycogène dans les granulocytes mais un peu dans les hyalinocytes et dans l'hémolymphe.

A côté de ces deux cellules, dont on retrouve la même structure sur coupe histologique, particulièrement dans les tissus fixés au ZENKER, on peut observer des cellules renfermant de grosses inclusions souvent métachromatiques ; ces cellules sont parfois agglomérées et arrangées concentriquement autour d'une substance hyaline indéfinie (photo 5, pl.15).

L'examen en microscopie électronique de ces cellules révèle que les inclusions métachromatiques sont des vacuoles renfermant des figures myeliniques (empilement de membranes unitaires), résidus typiques d'une digestion intracellulaire d'éléments endogènes ou exogènes.

On peut souvent observer quelques unes de ces cellules en voie de rejet à travers l'épithélium branchial (photo 1, pl.15). Ces cellules présentent de toute évidence des phénomènes de phagocytose, aussi les appellerons-nous phagocytes.

Il est vraisemblable que les vacuoles digestives internes correspondent à des lysosomes, mais ceci demanderait confirmation par mise en évidence de phosphatase.

Lorsqu'ils sont concentrés, ces amas de phagocytes correspondent probablement à une réaction de défense hémocytaire ponctuelle de la palourde, vis à vis de corps étrangers dont la seule trace après digestion n'apparaît plus que sous la forme d'une substance hyaline représentant le centre du foyer d'infection (photo 5, pl.15).

2.2- Les branchies

2.2.1- Introduction

Nous avons particulièrement étudié les branchies, en liaison avec les expériences d'infestation bactériennes, puisque ce sont, par hypothèse, les organes principalement impliqués dans les phénomènes de filtration et de concentration des bactéries.

Ainsi que nous l'avons montré dans ces expériences (voir chapitre 7), le pouvoir de rétention de particules inférieures à 1 micron est excellent. Ceci implique que les branchies possèdent un système de filtration dont la maille soit inférieure à 1 micron : ce système est réalisé grâce à la structure particulière des cils eu-latéro-frontaux, groupés en "cirres" eu-latéro-frontaux.

Nous avons pu comparer les dimensions relevées chez Ruditapes decussatus avec celles relevées par OWEN et Mc CRAE (1976) chez Nucula sulcata, Ostrea edulis et Chlamys varia.

2.2.2- Les feuillets branchiaux

2.2.2.1- Description

Les deux branchies sont reliées à la masse viscérale par l'axe branchial visualisé sur coupe par un muscle épais, de section circulaire.

Chaque branchie est constituée de deux lames branchiales aplaties, externe et interne ; ces deux lames se replient brutalement sur elles-mêmes au niveau de la face ventrale, la lame interne revenant se souder à la masse viscérale sous l'axe branchial, la lame externe dépassant l'axe branchial et se soudant au manteau dans la partie dorsale de l'animal. La partie descendante est appelée feuillet direct, la partie ascendante feuillet réfléchi (fig.2, pl.3).

Les feuillets sont plissés, chaque plis étant formé de l'accolement de, en moyenne, 30 à 40 filaments branchiaux (branchies hétérorhabdiques) soutenus par des baguettes chitineuses.

Les feuillets sont réunis par les filaments principaux. Des jonctions interfilamentaires assurent la cohésion de l'ensemble et permettent la circulation de l'hémolymphe dans toute la branchie. Ce sont elles qui donnent l'aspect fenestré des feuillets branchiaux, au niveau macroscopique (fig.1, pl.6). Des fibres musculaires sont insérées à la base des filaments ordinaires contigus et entre les filaments principaux directement opposés, permettant ainsi la contraction des feuillets branchiaux (fig.2, pl.4).

2.2.2.2-Rôle des feuillets branchiaux

La branchie est certainement l'organe le plus complexe et le plus important chez les lamellibranches. Principal organe en contact avec le milieu externe par sa vaste surface, ses fonctions sont multiples et vitales :

-Filtration et transport des particules en suspension : c'est le rôle principal des cellules ciliées des filaments branchiaux (OWEN et Mc CRAE, 1976; PURCHON, 1977; JORGENSEN, 1981).

-Respiration : la branchie est très richement irriguée par des lacunes sanguines où les hémocyanines véhiculées par l'hémolymphe subissent l'hématose au contact du fin épithélium les séparant de l'eau de mer continuellement renouvelée par les courants ciliaires.

-Régulation osmotique et nutrition directe : la très grande surface des feuillets plissés, augmentée par la présence des microvillosités (photo 1 et 2, pl.15) de la membrane externe des cellules épithéliales, favorise les échanges d'ions et l'absorption des matières organiques en solution, ou en suspension, par pynocytose (PEQUIGNAT, 1973). Voir aussi la photo 7, planche 14.

-Elimination : on peut observer, le long de l'épithélium des lacunes sanguines, de gros phagocytes chargés de vacuoles de diverses tailles, vraisemblablement des lysosomes, infiltrés dans l'épithélium et en voie d'être rejetés dans le milieu extérieur (photo 1, pl.15).

A côté de ces fonctions vitales, existent des rôles moins connus, mais néanmoins importants, des branchies :

- PEQUIGNAT (1973), a mis en évidence la présence d'enzymes digestives au niveau des branchies.

-MARTOJA (1977), a précisé le rôle des branchies et plus particulièrement des hémocytes circulant, dans l'absorption et la phagocytose des métaux et particules minérales concentrées au niveau des vaisseaux éfferents.

Ce phénomène aurait peut-être pour effet la protection du milieu interne de l'animal vivant en zone fortement polluée. Il n'est pas impossible d'autre part que ces accumulations d'hémocytes soient évacuées à travers l'épithélium branchial vers le milieu externe.

2.2.3- Le filament branchial.

2.2.3.1- Introduction

Il représente l'unité élémentaire des feuillets branchiaux. Il s'étend sur toute la largeur de la branchie et assure, c'est le phénomène le plus visible, un rôle mécanique de filtration et de transport de particules en suspension, de la région dorsale vers la gouttière marginale des feuillets branchiaux.

Possédant une forme allongée sur coupe transversale, le filament branchial est composé d'une baguette chitineuse en forme de V, sur laquelle repose un épithélium dont la partie tournée vers

l'extérieur du feuillet branchial est ciliée, et la partie tournée vers l'intérieur, plus mince, délimite une cavité ou lacune sanguine avec la baguette chitineuse.

On peut observer, au sein de la masse plus ou moins fibreuse des baguettes chitineuses, des limites cellulaires et des résidus nucléaires, attestant l'origine cellulaire de l'ensemble (photo 5, pl.13 ; et photo 1, pl.14).

La lacune sanguine permet la circulation de l'hémolymphe et des hémocytes, la faible épaisseur de l'épithélium favorisant, d'autre part, les échanges respiratoires.

2.2.3.2- Description des cellules ciliées :

Comme le montrent les photos 4 et 5, pl.13 et le diagramme de la figure 2, pl.6 ; le filament branchial est tapissé sur presque toute sa surface externe, de différents types de cils vibratils.

De la partie interne vers la partie externe, on trouve, dans l'espace libre inter-filamentaire :

-Les cils latéraux

Ces cils, qui mesurent 16 à 18 microns de long sont implantés régulièrement, en touffe serrée continue, le long du filament branchial. Le sens de leur battement est perpendiculaire à l'axe du filament branchial.

Les cils sont portés par quatre rangées de cellules, dont le grand axe est orienté parallèlement au filament branchial. Deux de ces cellules ne portent que deux rangées de cils sur une vingtaine au total.

-Les cils eu-latéro-frontaux

L'examen de micrographie électronique et de frottis de branchies en microscopie photonique à immersion (planches 13 et 14) nous ont permis de préciser l'organisation et la structure des cils eu-latéro-frontaux.

L'examen de frottis frais permet d'observer que les cils d'un même filament sont synchrones dans leurs battements.

Sur micrographie électronique, on observe que les cils sont portés par des cellules parallépipédiques de 7 à 8 microns dont le plus grand axe est orienté perpendiculairement au filament branchial, (fig.2, pl.13). Parallèlement à cet axe, se trouvent donc implantées deux rangées légèrement décalées de 25 à 30 cils, espacées de 0,2 micron environ. Les cils de chaque rangée sont jointifs à leur base.

Ces deux rangées de cils, tous de longueur inégale, forment un cirre eu-latéro-frontal d'environ 8 à 9 microns de long. Chaque cirre est séparé du suivant par un espace de 1,2 micron (fig.4, pl.6)

A intervalle régulier (0,25 micron environ) et à partir de 1,2 micron de la membrane plasmique, les cils se courbent vers l'apex du filament branchial et alternativement dans deux plans différents. Le cirre a ainsi l'aspect d'un double peigne dont les deux rangées de dents forment un angle de 45° environ (fig.3, pl.6). On peut noter, au niveau de la courbure du cil, un élément de renfort situé à l'intérieur du cil, entre les microtubules centraux et périphériques (photo 4, pl.14).

On note l'implantation profonde des racines ciliaires de chaque cil du cirre eu-latéro-frontal et les nombreuses mitochondries, le tout rejetant le noyau dans la partie profonde de la cellule (fig.1, pl.14).

On remarque entre les cellules latérales et eu-latéro-frontale, une petite cellule, au noyau comprimé, au cytoplasme dense possédant un prolongement cytoplasmique venant s'appliquer sur les derniers cils des cirres eu-latéro-frontaux (photos 1,5,6 ; pl.14).

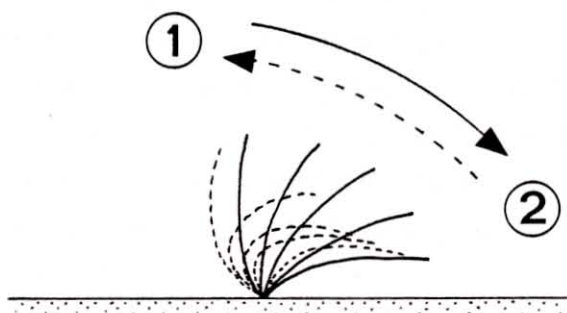
-Les cils prolatéraux (photos 1 et 3, pl.14)

Immédiatement au dessus du cirre eu-latéro-frontal, on observe une cellule portant deux rangées de cils, implantés en quinconce, parallèles à l'axe du filament branchial. Les cils mesurent 6 à 8 microns et sont proches, à la toucher, de la partie distale des cils eu-latéro-frontaux.

-Les cils frontaux (photos 7, pl.14)

Sur frottis, on observe que ces cils sont animés d'un mouvement ondulant alternatif créant un fort courant d'eau parallèle à l'axe du filament branchial, qui propulse les particules en suspension vers la gouttière marginale des feuillets branchiaux.

La figure ci-dessous schématise ce mouvement. On remarque que le passage de la position 1 à la position 2 est très rapide alors que le retour de la position 2 à la position 1 est plus lent.



A l'examen des micrographies, l'implantation des cils frontaux paraît beaucoup moins dense et ordonnée que celles des cils eu-latéro-frontaux, pro-latéro-frontaux ou latéraux. Les cils mesurent 15 microns environ et les racines ciliaires sont beaucoup moins développées que celles des cils eu-latéro-frontaux.

Les cils frontaux sont portés par 3 à 5 cellules présentant de nombreuses microvillosités de la membrane cytoplasmique apicale.

2.2.3.3- Discussion

Par le sens de leur battement, les cils latéraux provoquent un courant dirigé perpendiculairement à l'axe du filament branchial, vers la partie interne des lames branchiales.

Les particules en suspension dans l'eau canalisée ainsi dans l'espace interfilamentaire sont filtrées par les cirres eu-latéro-frontaux. Ceux-ci constituent, de par leur structure, l'élément de base du système de filtration chez Ruditapes decussatus et de nombreux autres bivalves (OWEN et Mc CRAE, 1976 ; JORGENSEN, 1981 HENRY et Coll. 1981).

Le véritable tamis que constitue le cirre eu-latéro-frontal, possède une maille de 0,25 micron environ, formée par la bifurcation alternative des cils le long de l'axe de cirre.

Il est d'ailleurs probable, pour des raisons purement mécaniques (voir fig.3, pl.6) liées à la structure du cirre, qu'au cours de son battement, la maille formée par deux cils adjacents à leur extrémité, varie en dimension. Elle est plus importante en position "relâchée" qu'en position "contractée", c'est à dire aux contacts des cils frontaux ; ceci renforce l'efficacité de ce piège à particule à maille variable, pendant son mouvement le rapprochant de l'apex du filament.

On observe sur frottis que les cirres, par l'extrémité de leurs cils bifurqués, se touchent, formant ainsi un tamis ininterrompu. Bien que non précisé par les auteurs, ceci est également visible sur les micrographies (fig.6, p.100) présentées par HENRY, VICENTE et CORNET (1981) et relatives à un autre bivalve fouisseur ; Cerastoderma glaucum.

La maille de 0,25 microns, observée chez Ruditapes decussatus, peut-être comparée avec intérêt avec celles trouvées chez le mollusque prosobranch N.sulcata (0,4 microns) et l'huître plate O.edulis (1,5 à 2,5 microns) par OWEN et Mc CRAE (1976).

Les cirres eu-latéro-frontaux de R.decussatus, possèdent d'autre part, plus de paires de cils (25 à 30) que N.Sulcata (20), O.Edulis (6 à 11) ou Mytilus edulis (22 à 26).

Ces constatations permettent d'expliquer le pouvoir et l'efficacité de la filtration de la palourde vis à vis de particules en suspension inférieures à 1 micron.

Il peut donc sembler vraisemblable que la palourde puisse se nourrir à partir d'éléments qui ne peuvent être filtrés par les huîtres, par exemple. On peut, peut-être, trouver là l'explication d'un phénomène observé par quelques ostréiculteurs : on pourrait "semer" des palourdes sur le sol, sous des élevages d'huître en sur-évélation, sans que l'on note une baisse de l'engraissement chez l'une ou chez l'autre espèce, malgré la compétition pour la nourriture que l'on est en droit d'attendre.

Les cils pro-latéraux ne semblent pas avoir de fonction évidente et l'on pourrait même penser que leur position nuit à l'efficacité de la filtration des cirres eu-latéro-frontaux.

Neanmoins, l'examen des micrographies en microscopie électronique à balayage fournies par OWEN et Mc CRAE (1976), semble indiquer que les cils pro-latéraux, par leur position, forment une sorte

de palissade, canalisant les particules véhiculées par les cils frontaux.

Les cils frontaux acheminent vers les gouttières marginales des lames branchiales, les particules en suspension filtrées et déposées sur l'apex du filament par les cirres eu-latéro-frontaux en fin de battement (position "contractée"). C'est un phénomène particulièrement visible sur frottis de branchie examiné au microscope optique.

On constate la spécialisation poussée, et donc l'efficacité, des structures ciliaires du filament branchial, impliquées chacune avec une étroite interdépendance, dans les phénomènes de filtration et d'acheminement des particules en suspension, alimentaires ou non, vers le système digestif.

2.2.4- Conclusions

Les constatations précédentes soulignent, s'il en était encore besoin, le rôle vital des branchies dans les relations principalement trophiques, entre la palourde et le milieu externe, et la haute spécialisation du filament branchial, justifiant à lui seul, la classification de R. decussatus parmi les microphages.

3.- Conclusions générales sur le chapitre 5

Nous nous sommes attachés, dans ce chapitre, à préciser l'anatomie d'organes connus, mais dont la description, en ce qui concerne R. decussatus, n'a jamais réellement été faite. Les auteurs se sont souvent contentés d'extrapoler, à partir des connaissances générales de l'anatomie des mollusques bivalves, une description succincte de certains organes de R. decussatus (SILHOL, 1963 ; GALLOIS, 1973).

Nous avons ainsi cherché à comprendre, à travers une étude histologique, la fonction cardiaque et notamment la fonction du bulbe aortique à la base d'une polémique toujours actuelle (NARAIN, 1976). Si nous avons pu mettre en évidence la structure principalement musculaire de cet organe, nous ne pouvons qu'émettre l'hypothèse de sa fonction dans la turgescence des siphons.

L'étude ultrastructurale des branchies nous a paru plus intéressante dans le sens où nous avons pu démontrer la possibilité de filtration de particules atteignant 0,25 microns, justifiant ainsi pleinement la microphagie réelle observée dans nos expériences d'infestation bactérienne (cf. Chapitre 7).

Nous pensons ainsi que la connaissance ultrastructurale des systèmes de filtration des mollusques adultes ou larvaires, peut conduire à un choix optimal de la nourriture à fournir dans les élevages expérimentaux ou les nurseries par exemple, cette nourriture pouvant être partiellement bactérienne (MENGUS, 1978).

D'autre part, les différences morphologiques que l'on ne manque pas d'observer entre chaque espèce (OWEN et Mc CRAE, 1976) et impliquant une efficacité variable de la filtration des germes pathogènes, pourraient conduire à une classification des coquillages filtreurs en espèces à haut risque ou non pour la santé publique ; ceci pourrait aboutir à un choix des zones d'élevages de chaque espèce commerciale en fonction de l'éloignement des sources de pollution.

VI RECHERCHE SUR LES INFECTIONS PARASITAIRES ET MICROBIENNES

1-Introduction

Lors de nos observations macroscopiques ou histologiques de palourdes française ou importées (Tunisie, Grèce), nous avons été amenés à observer un certain nombre de parasites. Certains sont connus et d'autres n'ont pas encore été décrits chez Ruditapes decussatus. Les plus importants d'entre eux appartiennent à la classe des Trématodes.

Nous avons ainsi observé les cercaires de Bacciger bacciger (PALOMBI, 1934) et vraisemblablement les métacercaires de Gymnophallus fossarum (BARTOLI, 1965) déjà décrits chez R. decussatus. Nous avons également observé diverses autres formes de Trématodes parasites que nous n'avons pu classer, faute de caractères suffisants, ou dont nous n'avons pas retrouvé la trace parmi les espèces parasites de bivalves, déjà décrites dans la revue exhaustive effectuée par CHENG, 1967.

Les Grégarines et Coccidies ont déjà été souvent décrites chez d'autres mollusques bivalves. Il n'en est pas de même des formes bactériennes parasites intracellulaires, à cycle de type chlamydien, décrites chez les palourdes tunisiennes, ou des corps bactériens intravacuolaires observés en grand nombre dans les palourdes tunisiennes, grecques ou françaises.

Les plasmopodes haplosporidiens décrits chez les palourdes de l'étang de Thau avaient déjà été observés en microscopie photonique (notamment par les chercheurs de l'I.S.P.T.M) mais c'est la première fois qu'ils sont décrits en microscopie électronique, le

faible taux du parasitisme expliquant les difficultés de recherche de ce parasite par les méthodes ultrastructurales.

2.- Les parasites helminthes

2.1- Trématodes

2.1.1- Introduction

Beaucoup de trématodes parasites de mollusques bivalves marins ont été déjà bien décrits et les découvertes se sont échelonnées de la deuxième moitié du siècle passé à la première moitié du siècle présent. Ceci est principalement dû à la taille relativement importante de ces parasites et à l'intérêt commercial évident des mollusques bivalves, qui les prédisposent à de nombreuses études biologiques et sanitaires.

Les Trématodes ont un cycle hétéroxène et, dans le cas présent, la palourde peut être le premier ou le deuxième hôte intermédiaire. Dans le premier cas, la palourde est l'hôte de sporocystes volumineux, renfermant des cercaires à différents stades de maturité (développement asynchrone) ou toutes identiques (développement synchrone) ; dans le deuxième cas, elle héberge des métacercaires enkystées, souvent en faible nombre. Tous ces stades infestants sont des formes larvaires, les formes adultes, c'est à dire se reproduisant et donnant naissance à de nouvelles générations, sont parasites de poissons ou d'oiseaux marins. Le cycle est résumé page 52.

2.1.2- Genre Bacciger

2.1.2.2- Présentation

Appartenant à la famille des Fellodistomatidae, la forme

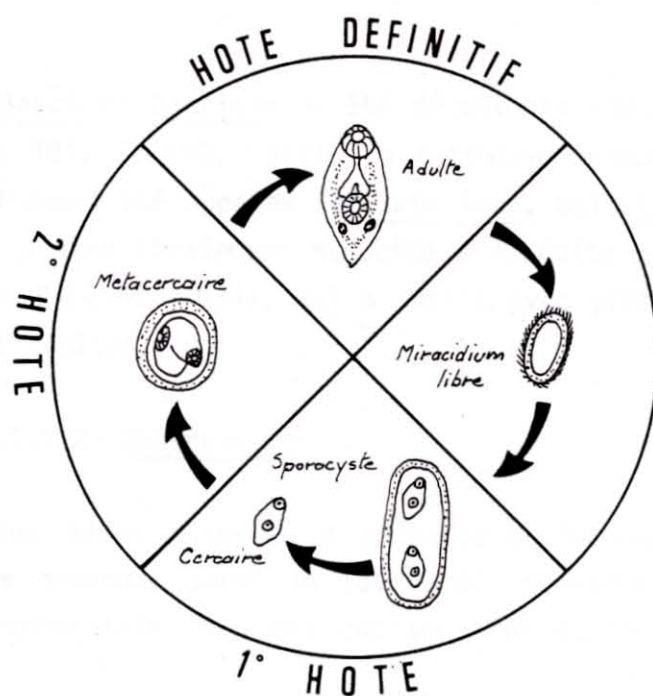


Fig. 1 : Cycle des Trématodes parasites de mollusques bivalves.

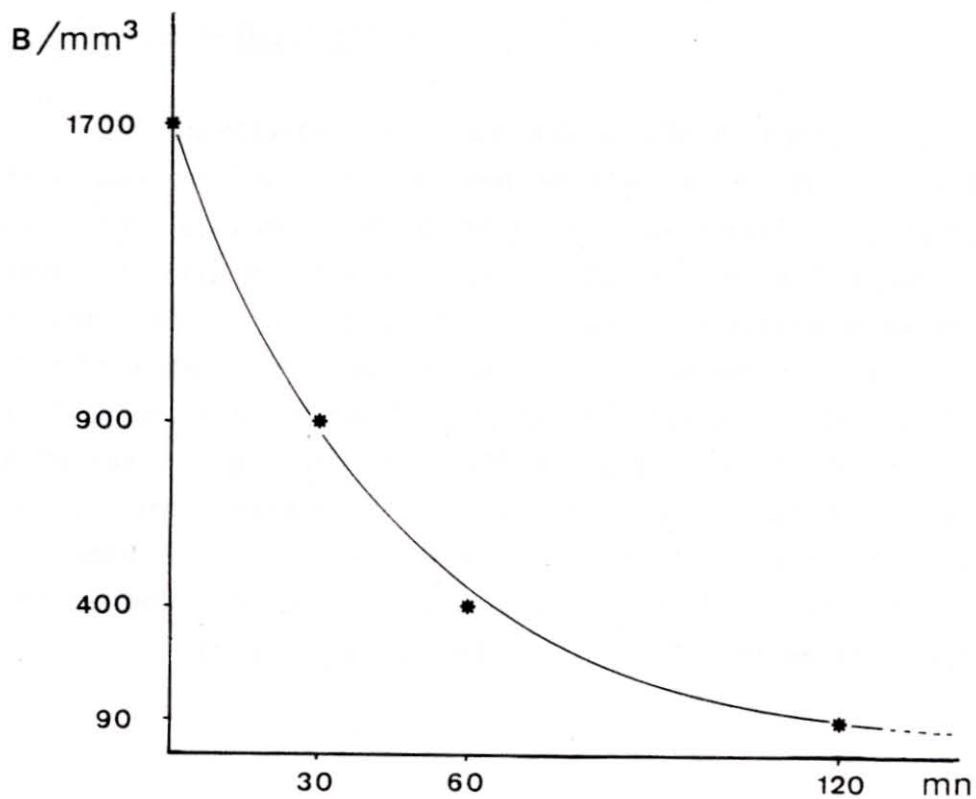


Fig. 2 : Cinétique de disparition des bactéries dans l'eau filtrée par les palourdes.

adulte de Bacciger bacciger a été découverte chez un poisson par RUDOLPHI en 1819 (CHENG, 1967). La cercaire découverte par HESPES en 1857 a d'abord été appelée Cercaria lata, puis C.Lutea, C.Pectinata, avant d'être finalement associée à l'adulte parasite de Atherina spp par PALOMBI (1934), qui a décrit avec précision les formes juvéniles et adultes.

2.1.2.2- Observations

Nous avons observé la présence de Bacciger bacciger sur une palourde grecque, parmi un lot de 20 individus. Cette palourde de taille commerciale (3,5 cm) quoique très amaigrie, était encore vivante.

Unfrottis nous a permis de constater la présence de sporocystes en très grand nombre dans les branchies, les reins, la glande digestive et la glande génitale (photos 2 et 3, pl.16).

2.1.2.3- Description

Ces sporocystes longs de 450 à 900 microns, de couleur jaunâtre sont mobiles et contiennent en moyenne une dizaine de cercaires. Après écrasement et déchirement transversal, ils laissent échapper des cercaires trichocerques de 200 microns de long environ, elles sont très mobiles et se déplacent par contraction et extension longitudinale du corps. Ces cercaires sont formées d'un corps long de 70 à 80 microns (pouvant atteindre 150 microns en extension) et d'une "queue" longue de 120 à 130 microns (variant de 80 à 170 microns suivant contraction et extension). La "queue" est dotée de deux rangées longitudinales de soies, dont la largeur atteint 50 microns maximum. Ces soies, implantées par série de 7 perpendiculairement à l'axe de la "queue", sont reliées entre elles par une fine

membrane cytoplasmique et affecte ainsi la forme d'une palme (fig.2, pl.17). Le corps possède une ventouse ventrale ou postérieure en son milieu et une ventouse antérieure de taille sensiblement égale (photo 1, pl.16).

2.1.2.4- Histopathologie

Sur coupes histologiques du corps de R.Decussatus, on observe que les sporocystes occupent la totalité de la glande génitale, provoquant une castration parasitaire (photo 3, pl.17). On note également la présence importante de sporocystes infiltrés dans le tissu conjonctif et les lacunes sanguines entourant les diverticules digestifs et le rein. Au niveau des branchies, les sporocystes envahissent les vaisseaux afférents sous-jacents des filaments principaux. Les vaisseaux afférents apparaissent circulaires et extrêmement dilatés en coupe transversale (fig. 1, pl.17 ; et fig.7, pl.18).

2.1.2.5- Conclusions

Véhiculés à travers le système sanguin lacunaire de la palourde, les sporocystes de B.Bacciger envahissent presque la totalité du corps de R.Decussatus pouvant provoquer une dilatation importante des lacunes sanguines et, dans le cas des branchies, vraisemblablement un ralentissement, voir un arrêt de la circulation sanguine. On trouve les sporocystes en grand nombre dans la glande génitale, ceux-ci pouvant y trouver les réserves nécessaires à leur survie et leur croissance. En effet, après élimination des cellules germinales, la gonade accumule en début d'hiver de considérables réserves de glycogène. Ces réserves de glycogène se retrouvent également éparses au sein du tissu conjonctif englobant les diverticules digestifs sous forme de protéoglycanes (photos 6 et 7, pl.12).

Il est fort probable que l'envahissement total du corps de l'hôte et la nutrition des parasites au dépend de ses réserves

conduisent la palourde à une mort certaine. L'état d'extrême maigreur et de faiblesse de l'individu observé conforte cette idée.

2.1.3- Genre Himasthla

Appartenant au genre Himasthla, nous avons observé deux métacercaires parasites de R.decussatus originaires du Golfe de Tunis et qui n'ont pas fait l'objet d'une description chez R.decussatus à ce jour. A notre connaissance, seul PALOMBI (1934) a décrit une espèce nouvelle, Himasthla Ambigua (PALOMBI), parasite des feuillets branchiaux de R.decussatus du Golfe de Naples.

Occupant un emplacement précis et bien que pouvant se trouver présentes en même temps chez le mollusque, les habitats de ces deux métacercaires ne se chevauchent pas.

La première est enkystée dans la partie dorsale de la gonade et quelquefois du rein, l'autre s'observe dans la partie distale du pied, souvent de part et d'autre du sillon byssogène. Elles sont de taille sensiblement égale, mais la première comporte 32 épines céphaliques et la seconde 24 épines probablement. Elles se rencontrent toutes deux principalement en hiver, disparaissant en Avril-Mai.

Il est possible de les observer à la loupe binoculaire et même à l'oeil nu à travers les téguments de la palourdes.

Pour les distinguer nous les appellerons, la première Himasthla 1 (H.1) et la seconde Himasthla 2 (H.2).

2.1.3.1- Himasthla 1

Observations :

On trouve H.1 plus fréquemment que H.2, avec un maximum de quelques dizaines d'individus par palourde. Le kyste de la métacercaire est parfois observable à travers la paroi musculuse du

corps de l'hôte, sous forme d'un petit point blanc nacré, lorsqu'il est suffisamment près du tégument externe. Les kystes ne deviennent plus discernables lorsque la gonade est en réplétion.

Sur frottis, on observe des kystes transparents, sans ornementation, laissant voir les métacercaires immobiles par transparence (photo 1, pl.18). Il faut remarquer ici que la position relativement abritée des kystes dans la gonade ou les fibres musculaires, rend difficile leur prélèvement. D'autre part, le kyste assez dur et le corps fragile des métacercaires ne nous ont permis d'obtenir que très peu d'individus entiers, après écrasement des kystes entre lame et lamelle.

En cas de succès, on peut observer la métacercaire, peu mobile, essayant de s'extraire du kyste.

Description :

Le kyste est formé de deux enveloppes : une enveloppe externe fine et souple et une enveloppe interne très rigide (photo 1, pl.18 et fig.1, pl.7).

La métacercaire oblongue, présente un renflement céphalique pourvu d'une couronne dorsale de 26 épines, se terminant ventralement, de part et d'autre du pharynx, par une rangée supplémentaire de 3 épines (photo 1, pl. 19). Le corps est recouvert dans la partie antérieure de fines épines peu visibles.

La ventouse ventrale, située au 2/3 postérieur du corps, est plus grande que la précédente (photo 1, pl.19 et fig.1, pl.7).

L'appareil excréteur est formé de deux canaux prenant naissance à la hauteur de la ventouse orale ; s'épaississant juste après le pharynx, ils envahissent une grande partie du corps. Ils débouchent dans une sorte de vessie située à la partie postérieure du corps. Tout le système excréteur est envahi de "granules" réfringents jaunâtres de différentes tailles, résidus cristallisés des produits d'excrétion.

La bouche est prolongée par un court prépharynx puis un pharynx, très court également ; celui-ci précède un oesophage qui semble se dédoubler rapidement, mais l'appareil digestif n'est pas

visible, caché par les déchets volumineux de l'appareil excréteur.

Dimensions :

-Diamètre du kyste	: 0,230 à 0,240 mm
-Longueur du corps	: 0,35 à 0,45 mm
-Largeur du corps	: 0,12 à 0,22 mm
-Nombre d'épines céphaliques	: 32 = 26 + (2 x 3)
-Diamètre ventouse antérieure	: 0,050 mm
-Diamètre ventouse postérieure	: 0,075 mm
-Longueur du pharynx	: 0,030 mm

Histopathologie : (photo 2, pl.18).

Sur coupe histologiques, on note très souvent une réaction inflammatoire des tissus environnant sauf dans le rein. Ce phénomène se manifeste par une agglutination d'hémocytes autour du parasite. Cette réaction de défense de la palourde n'est pas générale et on note parfois l'absence de concentration anormale d'hémocytes autour du parasite. Par contre lorsque le parasite est en voie de dégénérescence, il y a toujours présence d'hémocytes et dans les phases ultimes, il semble qu'il y ait digestion cellulaire des tissus du parasite, l'indice étant le nombre important d'hémocytes (ou phagocytes) hypertrophiés par de grosses inclusions cytoplasmiques (débris cellulaires de digestion) à proximité (photo 2, pl.19).

Quand ils sont présents en grande quantité, les parasites occupent une place non négligeable de la gonade, perturbant ou empêchant vraisemblablement le développement de celle-ci (photo 2, pl.18)

Conclusions :

Le faible nombre généralement observé de parasites présents au même instant n'entraîne pas d'effet notable sur la palourde, hormis une réaction inflammatoire locale. De fait, nous n'avons jamais noté de mortalité anormale sur les palourdes parasitées par Himasthla 1. On observe tout au plus une castration parasitaire localisée due à la présence du parasite et la réaction hémocytaire de l'hôte, les deux phénomènes entraînant l'annexion d'une place non négligeable de la glande génitale.

2.1.3.2- Himasthla 2

Observations :

Moins fréquentes que H.1, les métacercaires d'H.2 sont aussi moins visibles, car situées dans la partie charnue, musculeuse, du pied. Elles sont bien visibles sur les individus amaigris ou moribonds. Dans ces derniers cas, elles sont facilement prélevables et les kystes peuvent être écrasés entre lame et lamelle sans trop de dommage pour le corps de la métacercaire.

Les kystes apparaissent transparents, sans ornementation, les métacercaires immobiles enroulées sur elles-mêmes. La paroi du kyste écrasée, la métacercaire cherche à se libérer par contraction et constriction longitudinale du corps (photos 3,4,5 ; pl.18).

Morphologiquement semblable à H.1, H.2 ne possède que 24 épines céphaliques, plus grosses, et situées sur une seule couronne. Cette caractéristique permet de les différencier visuellement, rapidement sur frottis. Une autre caractéristique est l'aspect "ramifié" des canaux excréteurs, notamment dans la partie proximale de ceux-ci, à la base du pharynx (photo 6, pl.18).

Description :

-Diamètre du kyste	: 0,225 à 0,300 mm
-Épaisseur de la paroi (matériel frais)	: 2,5 μ
-Longueur du corps	: 0,43 à 0,55 mm
-Largeur du corps	: environ 0,20 mm
-Ventouse postérieure légèrement allongée	: 0,10 mm de long
-Ventouse antérieure plus petite	: environ 0,06 mm

Le corps est recouvert sur toute la moitié antérieure de fines épines disposées en rangées régulières. La bouche s'ouvre au milieu de la ventouse orale et se continue par un prépharynx court puis un pharynx prolongé par l'oesophage dont on aperçoit le début de la dichotomie à travers la masse compacte des déchets cristallisés du système d'excrétion, qui envahit la majeure partie du corps.

La ventouse ventrale se situe au début du tiers postérieur du corps (fig.2, pl.7).

Les deux canaux principaux du système excréteur se rejoignent un peu avant le pore excréteur, situé à l'extrémité postérieure du corps. Dans la partie proximale, ces deux canaux, très fins, atteignent la ventouse orale (fig.3, pl.7). Dorsalement, on distingue deux glandes céphaliques prenant naissance au niveau du pré-pharynx et débouchant par deux pores situés dans la partie antérieure de la ventouse orale (fig.3, pl.7).

Histopathologie :

L'examen des coupes histologiques, au niveau de la partie distale du pied, montre que les réactions tissulaires de l'hôte sont faibles et les concentrations hématocytaires autour du parasite sont sensiblement identiques à celles des lacunes sanguines irriguant les masses musculaires du pied. On a néanmoins pu noter, chez certaines palourdes moribondes, une réaction tissulaire importante, identique à celles rencontrées pour H.1 (photo 8, pl.18) et caractérisées par une concentration d'hématocytes entourant le kyste d'un manchon de cellules épais. On observe à l'inverse de H.1, beaucoup moins de métacercaires dégénérées et en voie de digestion cellulaire par l'hôte.

Conclusion :

Beaucoup moins fréquente que la précédente, H.2 ne semble pas provoquer de réaction tissulaire importante chez la palourde, qui semble bien tolérer sa présence. Présent en faible nombre, ce parasite ne provoque pas de perturbation, notable histologiquement, dans la physiologie du mollusque.

2.1.4- Genre Gymnophallus

1°) Présentation

BARTOLI (1965), a découvert relativement récemment un Trématode de la famille des Gymnophallidae (Gymnophallus Fossarum) notamment chez Ruditapes decussatus, Cardium glaucum et Tape aureus de Camargue (lagune de Beauduc) (BARTOLI, 1972). BARTOLI (1973), précise également les microbiotopes occupés par les métacercaires : l'espace extrapalléal périphérique et l'espace extrapalléal sous-articulaire. Comme le précise BARTOLI (1973), ces larves ne sont jamais enkystées et se disposent entre le manteau et la coquille.

De notre côté, nous avons trouvé des métacercaires de Trématodes (prises à tort, au début, pour des cercaires), parasites de palourdes (R. decussatus), originaires du Golfe de Tunis. Près de 90 % des individus contrôlés étaient parasités.

La similitude des caractères et des microbiotopes occupés par ces deux parasites, chez le même hôte, nous permettent de les rapprocher.

2°) Observations

Visible à l'oeil nu, sous forme de petits points blancs nacrés, les métacercaires sont principalement regroupées dans les tissus du manteau, à la base des muscles rétracteurs du siphon ou parfois dans la bordure palleale ventrale au niveau de l'insertion des muscles rétracteurs du bord du manteau (fig.2, pl.8). On les trouve également libres dans l'espace extrapalleal situé entre le manteau et la charnière. Les difficultés de dilacération des tissus, sans léser les métacercaires, ne nous ont permis de dresser un dessin que d'après les individus trouvés libres, sous la charnière (fig.1, pl.8).

3°) Description

Les métacercaires, de forme ovoïde, sont mobiles, se mouvant par allongement et contraction longitudinale alternatives du corps. Celui-ci est recouvert d'un fin réseau d'épines dessinant des stries diagonales croisées. Ces épines deviennent peu visibles dans la partie postérieure proche du pore excréteur.

La ventouse antérieure, ronde, épaisse, se prolonge directement par un pharynx musculieux. L'oesophage, très court, se divise rapidement en deux caeca atteignant la hauteur de la ventouse ventrale située au 2/3 postérieur du corps. La vésicule excrétrice très large, envahissant tout le corps, est formée de deux branches lobulées et ramifiées, se prolongeant jusqu'à la ventouse orale. Elle est remplie de fins cristaux tétraédriques jaunâtres que l'on retrouve infiltrés dans l'épithélium paléal entourant les métacercaires et le cytoplasme de nombreux leucocytes présents dans le tissu conjonctif (voir plus loin).

On distingue dorsalement, légèrement en deçà et de part et d'autre de la ventouse postérieure, deux testicules volumineux et au dessus du testicule gauche, l'ovaire, légèrement plus petit. De cet ovaire part l'oviducte qui débouche par le pore génital au dessus de la ventouse postérieure.

Caractéristiques morphologiques (mesures sur 9 individus)

- Longueur : de 0,29 à 0,33 mm (\bar{m} = 0,305)
- Largeur : de 0,15 à 0,17 mm (\bar{m} = 0,235 mm)
- Ventouse antérieure (diamètre) : 0,045 mm
- Ventouse postérieure (diamètre) : 0,035 mm
- Pharynx : 0,025 mm

Remarques : Il faut noter que les mesures relevées sur les métacercaires situées dans le bord paléal sont légèrement inférieures (fig. 3 et 5, pl.19).

- Longueur : de 0,22 à 0,25 mm
- Largeur : 0,15 mm environ
- Ventouse postérieure : de 0,025 à 0,030 mm
- Ventouse antérieure : de 0,038 à 0,043 mm

4°) Histopathologie et discussion

A l'ouverture des coquillages, on peut aisément remarquer que la position des métacercaires englobées dans les replis épithéliaux du manteau au niveau de l'insertion des muscles rétracteurs

des siphons ou des muscles radiaires du bord du manteau, doit occasionner une perturbation du fonctionnement musculaire ; ne serait-ce que par la gêne physique occasionnée par la présence parfois volumineuse des agglomérats de métacercaires.

L'observation des coupes histologiques (inclusion à la paraffine) confirme cette impression. Les fibres musculaires sont repoussées au niveau de leur insertion par les vésicules épithéliales.

La réaction épithéliale de l'hôte est intense ; les replis épithéliaux sont très épais, parfois confluents, et entourés d'un tissu conjonctif dense, infiltré par un grand nombre d'hémocytes.

Comme le signale BARTOLI (1973), on note également la présence de nombreux cristaux tétraédriques jaunâtres, dans le conjonctif mais également dans l'épithélium réactionnel de l'hôte et dans les hémocytes.

L'examen des coupes semi-fines (inclusion en résine) montre que l'épithélium réactionnel est intimement joint au parasite, ne laissant aucun espace libre (fig.6, pl.19).

On note également sur ces coupes, l'extrême développement des vésicules excrétrices des parasites, envahissant la totalité du corps.

Dans l'espace extrapalleal sous-articulaire, les métacercaires ne sont pas englobés par l'épithélium palleal et restent libres. En outre, la vésicule excrétrice est légèrement moins développée.

A l'instar de BARTOLI (1973), on observe parfois des métacercaires dégénérées, sous forme d'amas de cellules lysées baignant dans une substance hyaline acidophile.

Nous avons pu observer chez quelques rares individus de R.decussatus de Tunisie, des formations "perlières" au niveau de la charnière ; il est probable que l'on peut imputer ces formations à une réaction tissulaire de l'hôte, non sous forme d'un englobement épithélial, mais sous forme d'un dépôt de calcite tendant à isoler les métacercaires de l'épithélium palleal. C'est une réaction de défense et d'isolement classique des bivalves face à l'intrusion d'éléments étrangers, souvent inertes (grains de sable, vase ...), dans l'espace extrapalleal.

Nous avons quelquefois pu noter un détournement vers la charnière de l'axe des siphons qui pourrait être imputé à la présence des parasites (BARTOLI, 1976), mais nous avons également noté ce phénomène chez des palourdes non parasitées. Aucune mortalité anormale n'a été constatée.

5°) Conclusion

Le pourcentage de palourdes parasitées est très élevé (environ 90 %), mais le nombre de parasites par individus est faible.

Bien que la réaction épithéliale de l'hôte soit vive (englobement tissulaire des métacercaires ou parfois isolement par une couche de calcite), elle est limitée dans l'espace et il semble donc que la présence du parasite modifie peu la physiologie de l'hôte.

La similitude des caractères morphologiques du parasite, la spécificité de l'hôte et les microbiotopes occupés par les métacercaires (espace extrapalleal périphérique et sous-articulaire) nous permettent de rattacher cette espèce à celle décrite par BARTOLI (1965) : Gymnophallus fossarum (BARTOLI, 1965).

Il faut toutefois remarquer que ZAOUALI (1971) n'a pas observé Scrobicularia plana (1er hôte intermédiaire de G. Fossarum) lors de son inventaire faunistique du lac et du canal de Tunis : existe-t-il un autre hôte intermédiaire ? D'après ZAOUALI (1971), les bivalves les plus fréquemment rencontrés à proximité de R. decussatus, sont Cerastoderma edule et Eastonia rugosa Gmelin. Il serait donc intéressant de connaître la parasitologie de ces deux bivalves du lac et du canal de Tunis.

2.1.5- Métacercaire non identifié

1°) Présentation

En Janvier et Février, nous avons pu observer sur le pied de quelques palourdes tunisiennes, de petites excroissances hémisphériques blanchâtres, bien visibles à l'oeil nu, leur nombre ne dépassant guère une dizaine par individu.

2°) Observation

Le prélèvement d'une de ces excroissances par pinces fines en vue d'un examen par frottis permet d'observer une sphère très dure facilement détachable des tissus de la palourde. L'examen entre lame et lamelle nous a permis de constater qu'il s'agissait d'une métacercaire très opaque enkystée dans une structure sphérique transparente très dure, à large paroi. Nos essais en vue d'écraser ces kystes entre lames et lamelles pour la morphologie de la métacercaire se sont révélés décevants. En effet, vu la dureté du kyste, l'écrasement est brutal et conduit chaque fois à l'écrasement du corps de la métacercaire libérée. Nous avons néanmoins pu noter quelques caractéristiques.

3°) Description

Le tégument de la métacercaire est épais, opaque, couvert de grosses et courtes épines. La métacercaire est de forme ovale. La ventouse antérieure est ronde ; la ventouse postérieure, située au tiers antérieur de l'animal est oblongue, allongée dans le sens antéropostérieur.

Caractéristiques morphologiques :

- Diamètre du kyste : 0,40 mm
- Épaisseur de la paroi : 0,03 mm
- Longueur approximative de la métacercaire : 0,77 mm
- Diamètre de la ventouse antérieure : 0,10 mm
- Longueur de la ventouse postérieure : 0,12 mm

L'examen de coupes histologiques de palourdes fixées au Davidson nous a permis de confirmer quelques caractères morphologiques : l'épaisseur importante de la paroi du kyste, très acidophile et bien colorée par l'orangé G, l'aspect massif du corps du Trématode emplissant tout le kyste ; on note également le faible développement des vésicules excrétrices (photo 1, pl.21).

Les ventouses antérieures et postérieures sont massives, le pharynx petit. Il ne semble pas y avoir de prépharynx. Le corps est rempli d'un parenchyme lâche.

La double fixation glutaraldéhyde-acide osmique et l'inclusion en araldite, en vue de coupes semi-fines ont été décevantes le corps des métacercaires était mal fixé et l'araldite avait très mal pénétrée à l'intérieur du kyste.

Nous avons dû refaire une seconde inclusion, mais les coupes sont néanmoins de mauvaise qualité (photo 2, pl.21). Elles ont toutefois permis de confirmer que le corps, surtout dans la partie antérieure, était couvert d'épines épaisses insérées profondément dans le tégument. Elles ont également permis de confirmer le faible développement des vésicules excrétrices.

On note également la présence d'une substance hyaline chromophile baignant le parasite à l'intérieur du kyste.

4°) Effets histopathologiques

On remarque une réaction tissulaire localisée de l'hôte. De nombreux hémocytes s'agglutinent autour du parasite, formant une capsule fibreuse épaisse de 30 à 40 microns.

Le volume relativement important occupé par le parasite perturbe le passage des fibres musculaires insérées localement sur le tégument constitué d'une assise épithéliale souple apparaissant très contournée sur les animaux fixés et rétractés. Cet aspect plissé et l'enchevêtrement complexe des fibres musculaires expliquent d'ailleurs les facilités de turgescence et de mobilité du pied de la palourde, organe de déplacement et surtout d'enfouissement très efficace.

5°) Conclusion

Le nombre d'individus parasités est très faible. En outre la quantité de parasites, peu élevée, (de l'ordre d'une dizaine), ne semble pas affecter les palourdes, hormis quelques effets histopathologiques localisés ; les conséquences de la présence du parasite, vraisemblablement grâce à sa position très superficielle et son encapsulement par un manchon d'hémocytes l'isolant du milieu interne de la palourde, semblent donc physiologiquement très limitée. De fait le comportement des animaux parasités et leur engraissement sont identiques à ceux des animaux sains.

2.1.6- Sporocystes et cercaires non identifiés

1°) Présentation

Vers la fin Mars (1980), nous avons remarqué une palourde très affaiblie dans un lot récemment importé de Tunisie. Les valves étaient légèrement entrouvertes et n'ont offert aucune résistance à l'ouverture. Le corps était amaigri, transparent, et, par la déchirure inévitable se produisant dans la partie antérieure du corps à l'ouverture, laissait échapper de petits sacs allongés blanchâtres.

2°) Observation

L'examen d'un frottis de ces sacs nous a permis d'identifier ce qui semblaient être des sporocystes légèrement mobiles, mais à l'intérieur duquel nous ne discernions aucune cercaire, sinon des amas globuleux de différentes tailles, sans structure organisée visible. Des frottis des principaux organes (reins, branchies) et du corps nous ont confirmé que tout l'animal était parasité.

L'examen de coupes histologiques permet de se rendre compte que le nombre de parasites (sporocystes) est énorme. Les moindres recoins du corps sont envahis. Les acini de la glande digestive ne sont plus jointifs, car infiltrés et séparés par les sporocystes (photos 1 et 2, pl.20).

Nous n'avons observé (sur coupe) qu'un seul sporocyste contenant un élément structuré, vraisemblablement une cercaire. Ce sporocyste ainsi que beaucoup d'autres était situé dans les lacunes sanguines baignant l'épithélium excréteur du rein, le distandant considérablement (photo 3, pl.20).

Tout les autres sporocystes observés ne contenaient que des cellules germinales à différents stades d'organisation.

3°) Description

- Sporocystes sur frottis :
 - Longueur : 350 microns environ
 - Diamètre : 100 microns
- Cercaire dans le rein (coupe histologique)
 - Largeur : 58 microns

4°) Effets histopathologiques

On note des effets similaires à ceux rencontrés chez les animaux parasités par les sporocystes de Bacciger bacciger : castration parasitaire, infiltration (totale) des tissus conjonctifs, des lacunes sanguines et des vaisseaux sanguins branchiaux par les sporocystes. L'animal est extrêmement maigre et affaibli ; ses réactions aux stimulations sont faibles.

On observe également sur coupe dans les lacunes sanguines des agglomérations d'hémocytes (caractérisés par leur petit noyau très chromophile) entre les sporocystes. Ces hémocytes sont remplis d'une substance hyaline acidophile (colorée par l'Orangé G.) enfermée dans une vacuole comprimant et rejetant le noyau à la périphérie de la cellule (photo 4, pl.20).

On retrouve ces hémocytes dans le tissu conjonctif de soutien sous l'épithélium intestinal (photo 5, pl.20) ; ce dernier est aussi infiltré par un nombre considérable de ces hémocytes hypertrophiés (photo 6, pl.20) ; ceux-ci sont similaires aux quelques cellules globuleuses à petit noyau dense rempli d'une substance jaune verdâtre que l'on rencontre en faible nombre dans tous les épithéliums intestinaux.

MARQUES (1952) les appelle phagocytes et leur attribue un rôle d'excrétion par passage direct à travers divers épithéliums vers le milieu externe ou la lumière du tube digestif.

Il est probable que ces cellules jouent ici un rôle d'excrétion ; collectant les déchets du métabolisme rejetés par les parasites dans le milieu de la palourde comme cela est suggéré par MALEK (1974), et transportant ces déchets vers les points d'excrétion les plus proches, en l'occurrence l'épithélium intestinal.

On note également la présence de ces hémocytes dans le rein de l'animal parasité, certains en voie de rejet vers le milieu externe à travers l'épithélium excréteur rénal.

5°) Conclusion

A l'instar de ce qui a été observé dans le cas d'animaux parasités par les sporocystes de Bacciger bacciger, la présence de ce parasite sous la forme de sporocystes envahissant la totalité de l'individu semble létale pour les palourdes.

On n'observe aucune réaction tissulaire ou cellulaire de l'hôte contre les sporocystes, seule une grande partie des hémocytes sont impliqués dans un phénomène de phagocytose et d'excrétion de produits vraisemblablement rejetés par les parasites ; mais aucune réaction cellulaire habituelle (enkystement fibreux, phagocytose des parasites) n'est observée.

2.1.7- Discussion et conclusions sur les Trématodes.

Les larves de Trématodes, parasites hétéroxènes, s'observent à deux stades différents du cycle, selon les espèces, chez R. decussatus.

Comme premier hôte intermédiaire du cycle d'infestation, la palourde héberge les stades sporocystes puis sporocystes et cercaires.

Comme deuxième hôte intermédiaire, elle héberge le stade métacercaire. Cette position dans le cycle du parasite est biologiquement importante car la finalité est très différente pour l'hôte, qu'il intervienne comme premier ou deuxième hôte intermédiaire.

1°) Dans le premier cas, il s'agit pour le parasite de se multiplier et croître aux dépens de l'hôte. Dans ce but, la survie de la palourde, qui pourvoit aux besoins trophiques des parasites, n'est nécessaire que jusqu'à la maturité des cercaires. C'est une phase de nutrition et de protection des parasites au dépend des tissus et des propres réserves énergétiques de l'hôte (MALEK et Coll. 1974) dont l'aboutissement le plus probable est la mort pour la palourde. On constate effectivement que les individus très parasités sont souvent amaigris, baillants, siphons légèrement étendus dans une attitude caractéristique de la phase sub-létale chez les mollusques bivalves.

2°) Au contraire, dans le deuxième cas, le but du parasite est d'atteindre l'hôte définitif du cycle, oiseau ou poisson carnassier, afin de s'y développer et reproduire.

Pénétrer activement dans l'hôte final souvent très mobile étant trop aléatoire, le parasite y pénètre passivement, enkysté dans la palourde dont l'hôte définitif est le prédateur. Il s'agit ici d'une phase d'attente, dont l'aboutissement nécessaire à la survie du parasite est la prédation de la palourde par l'hôte définitif. Il faut donc nuire au minimum à l'état de santé du mollusque. On peut tout au plus observer une gêne physique pouvant parfois aboutir à une facilitation de la prédation comme dans le cas de l'infestation par Gymnophallus fossarum (BARTOLI, 1976).

Si la palourde a la chance d'échapper aux prédateurs, on observe une dégénérescence des métacercaires, suivie d'une réaction leucocytaire importante aboutissant à la phagocytose des débris cellulaires des parasites.

Quelque soit le stade infestant, il faut remarquer la faible réaction principalement hémocytaire, de l'hôte vis à vis des parasites vivants. Ceci corrobore les observations de FONT (1980) sur des cercaires et métacercaires vivantes mises en présence in vitro d'hémolymphe d'huître américaine Crassostrea virginica. FONT n'observe pas "d'encapsulation" de la cercaire vivante par les hémocytes. A l'inverse, si les cercaires sont tuées (par une solution saturée de NaCl), les hémocytes s'agglutinent autour et phagocytent les tissus nécrosés des parasites, le phénomène d'agglutination sur le tégument des parasites prenant plusieurs heures.

Nous avons effectivement observé d'importantes agglomérations d'hémocytes autour de métacercaires dégénérées, en notant la présence caractéristique de gros phagocytes chargés de granulation plus ou moins importantes, parfois énormes, résidus de la digestion intracellulaire des tissus nécrosés du parasite.

Dans les faits, nous avons rencontré beaucoup de palourdes infestées par des métacercaires et peu par des sporocystes et cercaires ; donc, en accord avec ce qui a été exposé plus haut, nous pouvons conclure que les infestations de R. decussatus par des larves de Trématodes provoquent peu de mortalité.

Un dernier point, intéressant à noter, est la grande spécificité dans le choix des microbiotopes, observée pour chaque Trématode parasite.

Nous n'avons jamais noté de chevauchement "d'habitat" entre chaque population de métacercaires de Trématode.

Cette particularité est résumée par la fig. 2, pl.9.

2.2- Turbellariés

1°) Présentation

Nous avons pu observer, en Février, dans le tractus digestif de palourdes de l'étang de Thau (et notamment du canal reliant l'étang à la mer), un Plathelminthe de la classe des Turbellariés Paravortex sp.

2°) Observations

La dissection de la glande digestive, de l'estomac et de l'intestin contourné de palourdes vivantes, permet d'observer facilement à l'oeil nu, grâce à sa taille relativement importante, ce Turbellarié vivipare et hermaphrodite défini comme endo-symbionte (JENNINGS et LE FLORE, 1979) ou parasite (GRASSE, 1961) du tube digestif.

Il se déplace assez vite à la surface de l'épithélium stomacal sans mouvement apparent du corps.

3°) Description (fig.1, pl.9)

L'examen microscopique, après montage entre lame et lamelle permet de l'observer plus en détail. De forme oblongue, légèrement aplati, le corps long de 0,35 à 0,40 mm et large de 0,10 à 0,15 mm, est recouvert d'une ciliature très active permettant le déplacement rapide du corps au sein de l'élément liquide emplissant la cavité stomacale.

Le pharynx, encadré par deux yeux, est situé très près de la partie antérieure du corps. Il se prolonge par un court oesophage débouchant dans la cavité digestive, sorte de sac emplissant la majeure partie du corps.

On distingue au dessous, deux vitellogènes emplis d'ovules volumineux.

La cavité digestive contient des débris cellulaires jaunâtres identiques à ceux observés dans l'épithélium et la lumière du tube digestif de la palourde. Ceci corrobore les observations de JENNINGS et Coll. 1979 , qui indiquent que le parasite s'alimente au dépend de la nourriture ingérée par l'hôte et des débris cellulaires rejeté par la glande digestive.

Sur coupe histologique de glande digestive, on observe quelques individus dans la lumière des conduits principaux des tubules digestifs (fig. 3 et 4, pl.21).

Le tégument peu épais du parasite est formé d'une seule assise de cellules épithéliales aplaties et ciliées. On observe en dessous une couche de petites cellules chromophiles indifférenciées puis les deux vitellogènes emplies d'ovules au noyau volumineux et au cytoplasme finement granuleux, et à côté une masse d'éléments indéfinissables devant correspondre au contenu intestinal. La faible taille des individus et l'absence d'embryons prouvent qu'il s'agit d'individus immatures.

4°) Effets histopathologiques

Le faible nombre de Turbellariés observés (de 1 à 5 sur coupe) et l'absence de lésion visible montrent que la présence du parasite n'affecte guère l'hôte autrement que par le déplacement de son corps relativement volumineux, distandant les conduits principaux des tubules digestifs et les obstruant temporairement. Mais ce n'est là qu'un gêne et non une lésion, l'élasticité de l'épithélium intestinal permettant d'absorber sans dommage le passage du parasite.

5°) Conclusion

S'il est vrai qu'il vit à l'intérieur du corps de la palourde (mais non pas dans son milieu interne) et qu'il se nourrit au dépend de son hôte, ou tout du moins de la nourriture ingérée ou rejetée par ce dernier, Paravortex ne provoque néanmoins aucune lésion visible sur les tissus. Il ne semble pas non plus agir sur l'état d'engraissement de l'hôte. On ne peut donc parler ici de parasitisme, mais plutôt de symbiose qui ne profiterait à priori qu'à Paravortex. Le terme d'endo-symbionte ("entosymbiotic") retenu par les anglos-saxons semble le plus approprié.

3- Les parasites protistes

3.1- Coccidies

3.1.1 Présentation

En Juillet 1979, l'examen de coupes histologiques du tractus digestif de palourdes (R.decussatus) de l'étang de Thau, nous a permis de constater la présence d'un protiste parasite de l'épithélium de l'intestin contourné. La taille et l'aspect du parasite, rappellent certains protistes coccidiomorphes déjà décrits chez quelques mollusques bivalves.

3.1.2 Description (photos 3 et 4, pl.22, fig.1, pl.10)

La cellule de forme ovoïde, a une longueur de 10 à 15 microns et une largeur de 5 à 7 microns, sur matériel fixé au Davidson. Le noyau de 4 microns de diamètre, possède un nucléole volumineux (2,5 microns environ).

Coloré au Mann-Dominicci, le cytoplasme du parasite, finement réticulé, apparaît basophile. Le noyau est bleu très pâle et le nucléole bleu et rouge orangé.

Après la réaction de Feulgen, le noyau reste incolore, à l'inverse des noyaux hémocytaires et épithéliaux de l'hôte. Sur lame témoin (action du réactif de Schiff seul) contre-coloré par le picro-indigo-carmin, le nucléole est coloré en jaune. Le cytoplasme apparaît parfois vacuolisé (photo 5, pl.22). On peut également observer quelques parasites dans le tissu conjonctif de soutien de l'épithélium intestinal.

On note parfois la présence d'un ou plusieurs noyaux, petits et intensément colorés, identiques aux noyaux hémocytaires, à proximité du parasite. Plus rarement, on observe, accolées au parasite, des masses de matériel globuleux et verdâtre, semblables à celles que charrient les phagocytes rejetés dans la lumière intestinale. Au niveau de ces masses globuleuses, la membrane cytoplasmique du parasite n'est plus visible (photo 6, pl.22).

3.1.3 Discussion

La taille, l'aspect et la position intraépithéliale des parasites rappellent les caractéristiques des stades coccidiens déjà décrits chez certains bivalves. On remarquera ainsi une grande ressemblance morphologique avec le Sporozoaire coccidiomorphe, rapproché du genre Pseudoklossia, parasite de l'huître Crassostrea gigas (COMPS et Coll.1973), huître dont l'élevage est d'ailleurs largement pratiqué dans l'étang de Thau. Il faut toutefois noter que la coccidie observée chez C.gigas est légèrement plus volumineuse.

Par contre, les caractéristiques de taille de la cellule, du noyau et du nucléole, sont très proches de celles de la coccidie, parasite de l'épithélium rénal, observée chez Ostrea edulis (TIGE et Coll. 1977) ; bien que celle-ci soit décrite comme "arrondie" et non ovale.

La réaction négative au Feulgen confirme les observations de GRASSE qui remarque une coloration faible ou nulle de la chromatine dans le schizonte des coccidiomorphes en période d'anabolisme.

La présence de masses verdâtres globuleuses associées à la disparition locale de la membrane cytoplasmique du parasite, suggère l'existence probable de phénomènes de phagocytose et de digestion intracellulaire, partielle ou totale, du protiste.

La phagocytose est en effet la principale réaction de défense de l'organisme du bivalve, face à l'intrusion de corps étrangers microscopiques dans ses tissus (CHENG et CALI, 1974 ; BAYNE, 1974). Ces réactions de digestion intracellulaires sont identiques, par exemple, à celles accompagnant la dégénérescence des métacercaires de Trématodes parasites des tissus de R.decussatus, où l'on observe de larges masses globuleuse verdâtres intracytoplasmiques dans les phagocytes. Nous n'avons pas observé de lésion importante des tissus. Les effets du parasite semblent être cytopathogènes et limités à la cellule-hôte, n'entraînant que de légers désordres dans l'épithélium intestinal.

3.1.4 Conclusion

Le faible nombre de parasites observés simultanément sur coupe histologique, leur relative sensibilité aux phénomènes phago-

cytaires déclenchés chez certaines cellules-hôte, font que les conséquences de la présence de ce parasite sont limitées.

3.2 Grégarines

Nématopsis

3.2.1 Présentation

Nous avons pu observer sur des coupes histologiques de branchies de palourdes tunisiennes, au mois de Janvier, des formes plasmodiales contenant 1 à 5 spores éllipsoïdales renfermant chacune un corps vermiforme (photos 1 et 2, pl.22). Ces formes parasitaires (ainsi que leur position), rappellent immédiatement les spores du genre Nématopsis déjà décrites chez de nombreux bivalves (SPRAGUE, 1970), et dont le cycle fait intervenir deux hôtes : un mollusque bivalve et un crustacé décapode.

3.2.2 Description

Les spores, circulaires en coupes transversales, ont 13 microns de long sur 6 à 7 microns de large et possèdent une paroi épaisse.

Le sporoplasme, vermiforme et replié sur lui-même a 10 microns de long. Sa taille maximale pourrait être de 20 à 25 microns, mais est difficile à évaluer, à cause des replis peu discernables du corps. Le sporoplasme, dans sa partie la plus renflée, contient un noyau sphérique, légèrement plus clair que le cytoplasme, et de 2 microns de diamètre environ (photo 2, pl.22 ; et fig.2, pl.10).

Les formes plasmodiales contenant les spores, larges de 20 à 35 microns, sur coupe, possèdent 1 à 4 noyaux de taille légèrement supérieure à celle des noyaux hémocytaires proches. Le cytoplasme paraît altéré et présente de fortes rétractions, laissant place à de grandes vacuoles. Ces "plasmodes" sont situés dans le tissu conjonctif englobant les vaisseaux sanguins situés à la base des filaments branchiaux.

3.2.3. Discussion

Les "plasmodies" observés ressemblent aux kystes renfermant les spores de Nematopsis legeri chez Mytilus galloprovincialis (LEGER, 1905 in SPRAGUE, 1970) ou aux cellules-hôtes de Nematopsis sp. découvertes chez Solen Vagina par SCHNEIDER en 1892 (SPRAGUE, 1970).

Il est donc probable que les noyaux du "plasmode" ainsi que les débris cytoplasmiques observés autour correspondent aux restes des cellules-hôtes infectées par les spores.

On remarque autour des cellules parasitées un léger épaississement des fibres conjonctives vraisemblablement élaborées par les fibrocytes du tissu conjonctif, dans le but d'isoler les parasites. Cette réaction pourrait correspondre à un début de phénomène de défense par enkystement des cellules parasitées.

On note en effet, autour de ces dernières, de nombreuses cellules, dont certaines à petits noyaux denses caractéristiques des hémocytes. Nous avons également observé un phénomène analogue dans le tissu conjonctif des branchies et de la masse viscérale, chez la coque Cerastoderma edule fortement parasitée par des spores de Nematopsis. Toutefois, dans les deux cas, les réactions hémocytaires sont moins fortes que lors d'infection par des métacercaires de Trématodes, par exemple.

Nous avons relevé, en définitive que peu de cas de palourdes infectées et aucun individu motibond ; ceci, associé au faible nombre de parasites vus sur coupe, semblerait indiquer une certaine innocuité du parasite, hormis un effet cytopathogène local.

En Janvier - Février, sur une population de Cerastoderma edule, dont beaucoup d'individus étaient pourtant fortement parasités, nous n'avons d'ailleurs observés qu'une faible mortalité. Ceci corrobore les observations de SPRAGUE et ORR (SPRAGUE, 1970) chez l'huitre américaine Crassostrea Virginica ; après une forte infestation expérimentale, ces auteurs concluent que, malgré les effets néfastes du parasite sur l'hôte, Nematopsis n'est pas un "facteur appréciable de mortalité, dans la nature".

Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait que, à l'instar des métacercaires de Trématodes, les spores de Nematopsis ne font que transiter dans le bivalve, hôte intermédiaire, dans l'attente de la prédation de ce dernier par l'hôte définitif, un crustacé Decapode.

3.2.4. Conclusion

Les spores de *Nematopsis* sp, déjà décrites chez de nombreux Mollusques bivalves, n'ont été que peu observées chez *Ruditapes decussatus* d'origine tunisienne, et ne provoque que des effets cytopathogènes localisés aux cellules-hôtes.

L'étude du cycle complet de cette Grégarine nécessiterait l'obtention d'animaux fortement parasités et la connaissance et l'obtention des différents crustacés Decapodes observés dans le Lac de Tunis, afin d'effectuer les infestations expérimentales nécessaires.

Toutefois, la faible présence du parasite pourrait indiquer que *R. decussatus* n'est qu'un hôte occasionnel, le peu de spécificité du parasite vis à vis des Mollusques bivalves étant un fait établi par plusieurs auteurs (LEGER, PRYTHERCH, KRUSE, in SPRAGUE, 1970).

Il ne semble donc pas, à priori, que ce parasite puisse être mortel, sinon pathogène pour les populations naturelles de *R. decussatus*.

3.3 Haplosporidie

3.3.1°) Introduction

Nous avons observé sur des palourdes (*Ruditapes decussatus*) et une clovisse (*Tapes aureus*), originaires de l'étang de Thau ainsi que sur des palourdes originaires d'Arcachon, des formes plasmodiales parasites de l'épithélium intestinal et du tissu conjonctif sous-jacent. Bien que présentes en faible nombre, ces formes parasitaires ont pu être retrouvées en microscopie électronique, ce qui a permis d'en préciser l'ultrastructure. A ce jour la seule présence d'haplosporidie parasite de *R. decussatus*, a été relatée par VILELA (1951) dans la gonade et les branchies de palourdes portugaises.

3.3.2°) Observation

En microscopie photonique, sur coupe de glande digestive, on trouve des figures plasmodiales dans l'épithélium stomacal et l'épithélium cilié des conduites principaux des diverticules digestifs ; plus rarement on peut le trouver dans le tissu conjonctif de soutien et dans l'épithélium de l'intestin contourné.

Les plasmodes, intracellulaires, ont une forme sphérique, leur diamètre étant voisin de 12μ (photos 1 et 2, pl. 23). Ils renferment un nombre variable de noyaux (de 2 à 12 comptés sur coupes) ; pourvus d'un endosome central, les noyaux ont un diamètre de $1,5 \mu$ à 2μ .

On note que la position intracytoplasmique du parasite dans la cellule-hôte, rejette le noyau de celle-ci à la périphérie (photo 2, pl. 23).

La microscopie électronique confirme la position intracytoplasmique du plasmode, mais la forme de ce dernier apparaît amiboïde, la membrane cytoplasmique formant en outre de nombreuses digitations. (photos 3,4 et 5, pl. 23).

Le cytoplasme finement granuleux, renferme de nombreux ribosomes et quelques mitochondries, légèrement plus petites que celles de cellules environnantes ($0,30$ à $0,55 \mu$ contre $0,40$ à $0,65 \mu$).

Ces mitochondries possèdent des crêtes peu développées et on observe quelques formes pouvant correspondre à des divisions binaires (photo 1, pl. 24).

On remarque également la présence de corps sphériques denses aux électrons, disséminés dans le cytoplasme ; leur diamètre varie de 60 à 175 nm et on en compte plus d'une soixantaine sur coupe. Ils sont constitués d'une zone centrale limitée par un système de deux membranes unitaires séparées par un espace opaque de 50 \AA environ (photo 1, pl. 24).

On note parfois, accolées aux mitochondries, des structures membranaires peu développées semblables au réticulum endoplasmique granulaire (photo 4, pl. 23).

Quelques plasmodes renfermaient des paquets denses de fibrilles allongées et parallèles, mais sans structure organisée. Ces fibrilles ne semblent pas reliées à des organites cytoplasmiques (photo 3 et 4, pl. 24).

Un des plasmodes contenait une structure paracristalline de 200 nm de long environ, formée de stries alternatives denses et claires aux électrons, avec une période de 350 \AA (photo 2, pl. 24).

3.3.3°) Discussion

3.3.3.1. Cytologie

Les mitochondries observées dans les plasmodes s'apparentent par leurs caractéristiques, aux mitochondries des cellules méristématiques des végétaux supérieurs (NOUGAREDE, 1966) : substance fondamentale finement granuleuse et crêtes internes parfois globuleuses peu nombreuses. Ces caractéristiques sont mises en relation avec une faible activité physiologique des cellules.

On note en effet que le reticulum endoplasmique est peu ou pas développé suivant les plasmodes, ce qui corrobore la précédente observation, et que les rares fois où l'on peut l'observer, il se retrouve proche des sources d'énergie indispensable à toute activité métabolique c'est à dire les mitochondries (photo 4, pl. 32).

Les nombreuses digitations de la membrane cytoplasmique du parasite qui augmentent la surface de contact incitent à penser que ce dernier utilise directement les réserves des cellules-hôtes. On remarquera au passage que les cellules épithéliales ou le tissu conjonctif du tube digestif possèdent beaucoup de glycogène.

La présence de structures cristallines et fibrillaires est inexplicquée ; la dernière pourrait être associée aux phénomènes de division nucléaire qu'implique la multiplication des noyaux plasmodiaux, par analogie avec les fuseaux chromatiques rencontrés chez les eucaryotes.

On a ainsi pu observer dans un plasmode que deux noyaux proches l'un de l'autre (150 nm), semblaient reliés par une structure internucléaire organisée (photo 5, pl. 23). A noter également sur ce plasmode l'un des noyaux possédant deux endosomes dont l'un est accolé à la membrane nucléaire. Ceci pourrait correspondre à certaines formes mitotiques observées chez Minchinia nelsoni (HASKIN et coll, 1966, SPRAGUE, 1970).

Certains plasmodes possèdent des vacuoles claires de 0,15 à 0,25 μ de diamètre (photo 3 et 5, pl. 23), dont la fonction est inconnue.

3.3.3.2. Systématique

Les caractéristiques des plasmodes observés rappellent certains stades plasmodiaux du cycle des Haplosporidies parasites de mollusques bivalves marins. On remarquera, en particulier, une grande ressemblance avec les premiers stades plasmodiaux de Haplosporidium costale WOOD et ANDREWS (1961), parasite du tissu conjonctif de l'huître Crassostrea virginica sur la côte Est des Etats-Unis. Les similitudes portent sur le nombre, la taille et la structure des noyaux.

Ce parasite a été associé à des mortalités importantes de C. virginica pendant la période estivale sur les côtes de Virginie.

Récemment, quelques parasites de mollusques bivalves ont été décrits en microscopie électronique et rattachés aux Haplosporidies grâce à la présence de structures considérées comme caractéristiques du groupe : spores issues de sporoplasmes formés par clivage du plasmode et haplosporosomes (PERKINS, 1976, PICHOT et coll. 1980).

Nous n'avons pas observé de spores mais les particules denses précédemment décrites (photo 1, pl. 24) rappellent par leur taille et leur structure les haplosporosomes déjà décrits chez certains parasites rapprochés ou rattachés aux Haplosporidies (GRIZEL et coll., 1974, PERKINS, 1975, PERKINS, 1980, COMPS et coll., 1980, CAHOUR et coll., 1980).

Cet élément de diagnose seul en l'absence des spores, ne nous permet pas d'inclure ce parasite dans les Haplosporidies. Les spores d'Haplosporidium tapetis, parasites des branchies, décrites par VILELA (1951), ont été considérés comme douteuses par SPRAGUE (1963 et 1970) qui note une réelle similitude avec des spores de Nematopsis. Quoique de faible qualité, dû vraisemblablement à l'imprimerie, les images fournies par VILELA ressemblent effectivement à celles des spores de Nematopsis que nous avons pu observer dans les branchies de R. decussatus.

La taille des spores observées par VILELA confirme d'ailleurs cette impression.

Depuis la découverte de ce parasite (JOLY et COMPS, 1979), nos efforts pour découvrir des spores n'ont pas abouti ; il ne nous est donc pas possible actuellement de classer ce protiste.

4. Infections bactériennes

4.1°) Introduction

L'examen histologique systématique de nombreuses palourdes, nous a conduit à remarquer la présence de divers corps bactériens parasites des branchies.

Ces infections bactériennes, bien que fréquentes, n'ont jamais été rapprochées de mortalités anormales.

A ce jour, seuls HENRY, VICENTE et CORNET (1981) rapportent la présence de bactéries parasites intracellulaires des branchies de la coque méditerranéenne Cerastoderma glaucum.

4.2°) Observations

4.2.1. Bactéries parasites intracellulaires de la partie apicale des filaments branchiaux

Nous avons observé dans les cellules épithéliales de la partie apicale des filaments branchiaux, deux microorganismes de type bactérien.

4.2.1.1. Le premier est relativement fréquent et pu être observé sur les palourdes grecques et tunisiennes et celles de l'étang de Thau. Les corps bactériens ont la forme de batonnets trapus de 1,5 à 2,2 μ de long sur 0,7 à 1,2 μ de diamètre. Ils sont limités par une membrane cytoplasmique unitaire tripartite ondulées (photo 1 à 6, pl. 25).

La partie cytoplasmique centrale claire renferme un matériel nucléaire finement réticulé ainsi que des corpuscules opaques aux électrons, de taille sensiblement identique (35 nm en moyenne), paraissant liées au matériel réticulé. On note parfois le faible nombre ou l'absence de ces corpuscules. La partie périphérique du cytoplasme est remplie d'un matériel granuleux de type ribosomal. On ne note pas la présence de paroi.

Les corps bactériens sont regroupés dans une sorte de vacuole de taille variable limitée par deux membranes unitaires séparées par un espace de 200 nm environ. On observe à la périphérie de cette vacuole quelques amas de matériel dense aux électrons (phot. 3 et 4, pl. 25).

4.2.1.2. Le deuxième parasite de type bactérien, qui n'a été observé qu'une fois en microscopie électronique, présente des caractéristiques originales (photo 1, pl. 26).

Le microorganisme décrit ici parasitait la cellule "intermédiaire" (HENRY et coll. 1981), située entre les cellules latérales et eu-latérofrontale du filament branchial.

De forme moins régulière que le précédent, ce parasite est de taille sensiblement égale (2,35 μ de long sur 1,25 μ de large maximum).

Limité par deux membranes unitaires séparées par un espace de 170 nm environ, le microorganisme renferme plusieurs éléments inhabituels chez les bactéries :

- des éléments opaques aux électrons de forme ronde ou oblongue de 0,16 à 0,35 μ de long, baigant dans la moitié du volume d'un cytoplasme granuleux.

- l'autre moitié du parasite est occupé par un corps sphéroïde finement granuleux légèrement plus dense aux électrons que le cytoplasme environnant. Ce corps est limité par une large structure tripartite de 65 à 70 nm d'épaisseur, formée de deux bandes sombres séparées par un espace clair de 15 nm environ. On ne note pas la présence de structure membranaire classique visible.

Les parasites sont enfermés dans une structure vacuolaire limitée par quatre membranes dont deux sont bien parallèles et séparées par un espace de 60 nm ; elles sont doublées chacune sur la face interne par une fine membrane ondulante (photo 1, pl. 26).

4.2.2. Bactéries parasites de la partie basale des filaments branchiaux

Nous avons observé sur des palourdes de différentes origines (Tunisie, Grèce, Etang de Thau, Bassin d'Arcachon) des concentrations infraépithéliales souvent importantes de microorganismes de type bactérien.

Sur coupe histologique classique, les parasites apparaissent envacuolés dans un sorte de sac de taille variable, mais très souvent énorme (jusqu'à 0,2 mm), appendu aux lacunes sanguines des filaments branchiaux dans la partie interne de la lame branchiale (photo 1, pl. 27 et 28)

Des frottis de branchies permettent d'observer la présence de microorganismes non mobiles, courts et trapus, de type bacillaire.

La microscopie photonique à immersion permet de constater que ces microorganismes prennent les colorants nucléaires (Hémalin, Rouge solide, Azocarmin).

La réaction de Feulgen est faible mais visible.

La structure nucléaire de type ADN est mise en évidence en microscopie à fluorescence par les réactions à l'acridine orange et au D.A.P.I. (photos 6 et 7, pl. 24).

Sur coupe semi-fine, les corps bactériens apparaissent très nettement (phot 2, pl. 27). Ils envahissent la totalité de la "poche", qui semble bordée par l'épithélium branchial (photo 3, pl. 27 et 28).

La microscopie électronique confirme la structure de type bactérien des microorganisme (photos 3 et 4, pl. 27).

Ils possèdent au centre un matériel nucléaire réticulé fin baignant dans une zone claire entourée d'un matériel granuleux s'étendant jusqu'à la double membrane cytoplasmique.

Le feuillet externe de la membrane, plus épais, est bordé d'un matériel dense aux électrons, de faible épaisseur (photo 5, pl. 27).

On ne note pas la présence de paroi.

4.3°) Discussion

La présence de bactérie parasites intracellulaires des branchies est suffisamment rare pour être signalée. L'association de bactéries, parasites intranucléaires, avec un autre mollusque bivalve des côtes Méditerranéennes, a récemment été signalée par HENRY et coll. (1981) lors d'une étude ultrastructurale du filament branchial de Cerastoderma glaucum.

C'est à notre connaissance, le seul cas précédemment rapporté de ce genre de parasitisme.

En ce qui concerne le premier type de bactérie observées dans la partie apicale du filament branchial, on note d'ailleurs une grande similitude de taille, de forme et de localisation de ces corps bactériens avec ceux décrits par HENRY et coll.

Nous n'avons pas observé de stade précoce d'infestation où la structure nucléaire de la cellule-hôte soit encore visible, néanmoins certains indices laissent supposer que ces bactéries sont également parasites intranucléaires :

- l'enveloppe vacuolaire contenant les bactéries est en fait formée de l'accolement de deux membranes unitaires dont l'écartement est identique à celui de l'enveloppe nucléaire (photo 4, pl. 25).

- on note la présence d'un peu de matériel dense aux électrons accolé à cette enveloppe et pouvant représenter les résidus du matériel nucléaire du noyau de la cellule-hôte.

Comme nous l'avons signalé plus haut, ces formes parasitaires sont fréquentes et n'ont été associées, ni à des mortalités, ni à des déformations branchiales décélables histologiquement ou cytologiquement. Les effets pathogènes sont limités à la destruction de la cellule-hôte et l'association parasite-hôte pourrait correspondre à une association symbiotique, comme le suggèrent HENRY et coll., mais plus vraisemblablement de type non mutualiste, car on imagine mal, à priori, l'intérêt que pourrait retirer la palourde de cette association.

Actuellement, les seules infections bactériennes associées à des mortalités d'huîtres ont été rapportées par TAKEUCHI et coll. (1960) au Japon et GLUDE (1974) aux ETATS-UNIS.

L'examen de palourdes grecques et de l'étang de Thau nous a permis de constater que respectivement 95 % et 80 % des individus étaient parasités, avec un taux de parasitisme évoluant de 1 à 15 % des filaments branchiaux atteints, sur coupe histologique de branche. Ces infections sont donc très fréquentes mais à priori, sans conséquence pathologique pour l'individu parasité.

Néanmoins il n'est pas impossible qu'une association symbiotique de deux organismes puisse évoluer au dépend de l'un ou l'autre à la faveur de variations de conditions hydrologiques du milieu ou physiologiques d'un des partenaires ; ceci pouvant déboucher dans le cas présent soit sur l'élimination des bactéries, soit, et c'est économiquement plus grave, vers la maladie ou la mort de la palourde.

La connaissance et le suivi de ces formes parasitaires ne sont donc pas négligeables.

Le deuxième forme bactérienne observée, bien que située dans un microbiotope identique à la précédente, présente suffisamment de différences morphologiques pour qu'il ne soit pas possible de lier ces deux organismes.

On peut retenir en particulier la présence d'une double membrane limitante. On remarque l'existence d'un corps sphéroïde pouvant rappeler un phénomène d'endosporulation.

Cet organite pourrait également correspondre à une individualisation du nucléoplasme, le matériel nucléaire réticulé classiquement observé dans les bactéries, n'étant pas visible dans la partie cytoplasmique du microorganisme.

N'ayant observé ce parasite qu'une fois, nous ne pouvons pas préciser plus avant sa structure et son éventuelle appartenance à un groupe bactérien ou protozoaire.

La dernière forme bactérienne, la plus importante en taille et en nombre, semble relativement répandue, la dimension impressionnante des "poches" vacuolaires contenant les microorganismes, facilitant en outre son observation.

Néanmoins, ces formes parasitaires n'ont jamais fait l'objet d'une précédente description. On peut seulement remarquer qu'une micrographie, fournie par VILELA (1950) dans son étude sur R. decussatus du Portugal, présente, malgré la mauvaise qualité de l'impression, de grandes similitudes avec celles que nous avons obtenues. Mais VILELA a expliqué cette malformation branchiale par la présence de larves de Trématodes parasites.

Malgré leur taille extraordinaire, ces poches bactériennes n'ont jamais été associées à des nécroses tissulaires des branchies. On n'observe cytologiquement qu'une hypertrophie des lacunes sanguines parasitées, avec une distention importante de l'épithélium microvillaire caractéristique ceinturant les lacunes sanguines branchiales.

Il est vraisemblable, dans le cas d'un fort parasitisme, où les "poches" de bactéries arrivent à se toucher (cas de certaines palourdes grecques notamment), que la circulation de l'eau à travers les ostia des filaments branchiaux soit perturbée, freinée ou arrêtée (photo 2, pl. 28).

Il est donc moins évident que l'on puisse parler là aussi de commensalisme, le caractère hypertrophique des formes parasitaires, indépendamment des phénomènes physiologiques non décelés, devant gêner physiquement le bon fonctionnement des branchies.

Déjà bien répandues en Méditerranée (Grèce, Tunisie, France), ces formes parasitaires demanderaient à être confirmées chez les palourdes des côtes Atlantiques (Portugal, France, Irlande, Angleterre). Nous ne l'avons en effet noté en Juillet 1979 que dans deux palourdes sur quatre, en provenance du Bassin d'Arcachon. D'autre part les formes observées par VILELA (1950) au Portugal, et attribuées à la présence de Trématodes parasites, ne sont que probables et nécessiteraient une confirmation cytologique.

4.4. Conclusions

Aucune mortalité anormale n'a été rapprochée de la présence fréquente de ces diverses formes bactériennes, sans doute parasites intracellulaires obligatoires, chez R. decussatus. Une classification de ces microorganismes et particulièrement de la dernière forme décrite, nécessiterait un isolement et une caractérisation biochimique et enzymatique que nous n'avons pu effectuer.

5. Infection Rickettsienne

Microorganisme de type chlamydien

5.1°) Introduction

Les rickettsies parasites de mollusques bivalves sont de découvertes relativement récentes (HARSHBARGER et coll., 1977, COMPS et coll., 1977, BUCHANAN, 1977, COMPS et DELTREIL, 1979, COMPS et coll., 1979 (1981). Ces microorganismes ont tous en commun le fait qu'ils parasitent l'épithélium des tubules digestifs. Dernièrement une rickettsie présentant un cycle de type chlamydien a été mise en évidence au niveau des cellules sécrétrices de l'épithélium digestif de palourdes originaires du Golfe de Tunis (JOLY et COMPS, 1980 (1982).

5.2°) Description

L'observation de coupes histologiques de tissu parasité révèle la présence de plages finement granuleuses, colorées par l'hématoxyline, au sein de l'épithélium digestif. On remarque que les noyaux des cellules parasitées sont comprimés et rejetés à la périphérie du cytoplasme (photos 1 et 2, pl. 29). La structure nucléaire du matériel observé est confirmée par la réaction positive au Feulgen, et la coloration bleu en épifluorescence, après action du D.A.P.I., met en évidence la composition de type ADN du matériel nucléaire (photo 2, pl. 29).

La microscopie électronique permet l'observation dans chaque cellule parasitée d'une large vacuole intracytoplasmique emplies de corps bactériens sphériques ou oblongs, de trois types différents, correspondant aux stades d'un cycle chlamydien (PAGE, 1974).

On observe des formes se multipliant par division binaire (les corps initiaux), des formes de résistance (les corps élémentaires) et des formes intermédiaires entre les corps initiaux et les corps élémentaires (photos 5 et 6, pl. 29).

Limités par une enveloppe formée de deux membranes unitaires (la membrane interne étant souvent peu visible), les corps initiaux mesurent 500 à 650 nm. Le cytoplasme renferme un matériel réticulé associé à des particules ribosomales. Certaines formes en cours de division binaire présentent une construction latérale caractéristique.

Les corps intermédiaires sont légèrement plus petits que les corps initiaux (480 à 580 nm) et possèdent la même double membrane, la membrane unitaire interne n'étant également pas toujours visible. Le cytoplasme contient à sa périphérie un matériel granuleux entourant une zone claire dans laquelle est centré un nucléoïde sphérique, dense aux électrons, de 190 à 200 nm.

Certaines formes intermédiaires (photos 4 et 6, pl. 29) présentent une condensation du nucléoïde non plus centrale, mais périphérique, souvent accompagnée d'une diminution du volume cytoplasmique.

Les corps élémentaires sont phériques, de 220 à 250 nm de diamètre. Ils possèdent deux membranes limitantes, séparées par un espace clair, la membrane externe, plus visible, étant sinueuse. De densité très élevée, la structure interne est peu visible ; on peut néanmoins observer, sur certaines formes, un nucléoïde central entouré d'un matériel granuleux de type ribosomal (photo 5, pl. 29).

5.3°) Discussion

5.3.1. Taxonomie

Les caractéristiques morphologiques et structurales, ainsi que le développement intracellulaire à cycle de type chlamydien permettent de rattacher ce microorganisme à l'ordre des chlamydiales.

On notera une grande similitude avec le microorganisme parasite du clam Mercenaria mercenaria L., observé par HARSHBARGER et coll. (1977) et MEYERS (1979) aux Etats-Unis.

On retiendra ainsi les formes intermédiaires particulières notées 2L, mais non décrites par HARSHBARGER et coll., que nous avons également pu observer chez R. decussatus et qui pourrait correspondre à des formes de condensation des corps intermédiaires en corps élémentaires.

Toutefois, compte tenu des affinités tinctoriales et des propriétés antigéniques du microorganisme décrit par MEYER (1979), différentes de celles des chlamydies connues, nous nous garderons de classer ce microorganisme au vu de ses seules caractéristiques morphologiques.

5.3.2. Histopathologie

L'agent infectieux semble peu développé au sein de la glande digestive ; on note, au maximum, une vingtaine de plages du microorganisme sur coupe histologique. L'effet cytopathogène se résume à une hypertrophie de la cellule parasitée ; le cytoplasme est réduit à une mince couche périphérique où l'on distingue encore le réticulum endoplasmique et les mitochondries ; le noyau est rejeté et comprimé contre la membrane cytoplasmique par la prolifération des corps bactériens.

Nous avons pu noter sur une coupe semi-fine, des microorganismes s'échappant dans la lumière du tubule digestif, au point de rupture de la membrane cytoplasmique.

Les cellules adjacentes ne souffrent pas de la proximité de la cellule parasitée et l'absence de nécrose et l'intégrité morphologique de l'épithélium digestif atteste d'une certaine innocuité du parasite sur la physiologie du mollusque.

5.4°) Conclusion

Ce microorganisme n'a été actuellement observé que sur les palourdes tunisiennes et à un faible taux de parasitisme. Il est possible, comme le suggèrent COMPS et coll. (1979-1981) pour un autre parasite, qu'il s'agisse d'une chlamydie de Vertébrés ou d'Invertébrés, transitant chez la palourde, et dont la pathogénicité vis à vis de cet hôte éventuel soit faible ou nulle.

Compte tenu des fréquentes importations de palourdes tunisiennes en France pour la consommation (après purification), il faut cependant être vigilant pour éviter une éventuelle contamination du cheptel français qui pourrait se montrer moins résistant.

Le respect des strictes mesures prophylactiques mises en place par une nouvelle législation des importations de coquillages en 1981 devrait donner là toute garantie souhaitable.

6. Conclusions sur les infections parasitaires : parasitologie et pathologie

Nous avons pu remarquer, au cours de cette étude, que les infections parasitaires observées évoluaient rarement vers la mort de l'hôte. Seules les palourdes infestées par des sporocystes présentaient les signes caractéristiques de la phase sub-létale.

Ce bilan du parasitisme de R. decussatus, bien loin d'être exhaustif, est néanmoins intéressant pour plusieurs raisons :

- il jette les bases d'un document de travail pour les pathologistes appelés à se pencher sur les problèmes épidémiologiques de la venericulture ; nous savons en effet, à travers l'expérience générale de la conchyliculture, que tout élevage intensif conduit tôt ou tard à des enzooties ou des épizzoties dont les causes (physiques ou parasitaires) ne peuvent pas être toujours décelées à temps.

- les parasites endémiques, s'ils ne sont pas mortels pour leur hôte habituel, pourraient être pathogènes, voire mortels, pour d'autres mollusques bivalves. La non spécificité de certains parasites a en effet été observé naturellement (COMPS et coll., 1975, GUTIERREZ, 1978) ou expérimentalement (COMPS et JOLY, 1980).

- la pathogénicité d'un parasite peut être dévoilée ou exacerbée dans certaines conditions d'élevage nouvelles pour l'espèce (changement des paramètres physico-chimiques à la suite du déplacement des zones d'élevage, par exemple) ; ceci a conduit à des mortalités notables dans certains élevages d'huîtres, atteints habituellement de viroses endémiques bénignes (MURCHELANO, 1980).

D'une manière générale, il est nécessaire de connaître l'existence et d'avoir un maximum d'informations sur les parasitoses atteignant les mollusques, surtout si l'élevage de ceux-ci est en pleine expansion ; il est bon en effet d'avoir toujours le principe suivant à l'esprit (STANIER et coll., 1966) : "... bien que tous les parasites ne soient pas nécessairement pathogènes, tout parasite peut être doué du pouvoir pathogène dans des conditions déterminées et doit être considéré comme un pathogène potentiel".

A partir de ce principe important, l'Administration française a élaboré une réglementation de protection des élevages français, bien comprise et souhaitée par la majorité des professionnels.

En effet, à une époque où les échanges commerciaux internationaux s'intensifient, il est prudent, sans imposer une politique de protectionnisme, de prévoir des mesures prophylactiques visant à sauvegarder le cheptel conchylicole français. Donc, en respectant le principe précédent, il faut prohiber l'immersion en eau française de tout mollusque bivalve étranger hébergeant un parasite, à fortiori quand celui-ci est inconnu.

A ce niveau, l'histologie restera toujours la science de prospection indispensable à la parasitologie et éventuellement à la pathologie parasitaire.

VII ETUDE DE LA CONCENTRATION PAR R. DECUSSATUS, DE BACTERIES EN SUSPENSION DANS L'EAU DE MER

1) Introduction

Afin de cerner le comportement de R. decussatus face aux proliférations bactériennes naturelles (malaïgue par exemple), ou artificielles (pollution urbaines), nous avons procédé à des infestations expérimentales en aquarium, par deux souches bactériennes

- l'une d'origine entérique, Escherichia coli (souche CC 185), sert de germe-test de contamination fécale de l'eau et des aliments dans les analyses bactériologiques de routine effectuées par les organismes chargés de la protection de la santé publique (services vétérinaires, DDASS, ISTPM) ; c'est le germe-test couramment recherché dans les coquillages par le service du contrôle sanitaire de l'ISTPM (méthode AFNOR au B.B.V.).

- l'autre, (Micrococcus marina), isolée du milieu marin, est un microcoque à priori non pathogène pour la palourde.

Nous avons procédé à 3 types d'expériences :

- avec E. coli seul,
- avec M. marina seul,
- avec E. coli et M. marina.

En complément nous avons effectué des micrographies électroniques de ces deux bactéries, après un séjour de 3 heures en eau de mer, ceci afin de connaître le plus exactement possible la taille de ces micro-organismes, ainsi que l'influence d'un séjour (relativement court) dans un milieu naturel pour l'un (M. marina), exceptionnel pour l'autre (E. coli).

2. Méthodologie

a) Expérience d'infestation bactérienne

Les méthodes et le matériel utilisés sont décrits dans le chapitre correspondant.

Nous rappelons ici, pour mémoire, le protocole suivi :

- culture de *E. coli* sur milieu naturel lactosé au Bromocrésol pourpre (4 ballons de 400 ml),
- culture de *M. marina* sur milieu de Rothe (4 ballons de 200 ml),
- centrifugation des cultures, remise en suspension des culots en eau de mer et ensemencement dans les aquariums des solutions bactériennes,
- protection contre les projections dues au bulleur par un couvercle en plastique,
- prélèvement des coquillages par des pinces métalliques longues,
- dissection des animaux sur papier Joseph.

Compte-tenu du pouvoir pathogène potentiel de *E. coli*, nous avons manipulé avec des gants de caoutchouc.

b) Fixation des bactéries pour la microscopie électronique:

Après la centrifugation des 2 cultures bactériennes et remise en suspension des 2 culots en eau de mer dans un même tube à essai, celui-ci est laissé en attente sur un portoir à température ambiante.

Au bout de 3 heures, on additionne le fixateur au glutaraldéhyde et on mélange bien le milieu. On laisse la fixation se poursuivre une heure, puis on centrifuge. Le culot est lavé au tampon cacodylate en prenant soin de ne pas le remettre en suspension, puis post-fixé au tétroxyde d'osmium. La déshydratation et l'inclusion en résine se font ensuite avec précaution compte-tenu de la fragilité du culot de bactéries.

3) Résultats

3.1. Observations macroscopiques

Dans l'expérience utilisant la souche *E. coli* seule, l'ensemencement des bactéries dans l'eau de l'aquarium, effectué très doucement, n'a pas perturbé la filtration des animaux.

Au moment de l'ensemencement, la salinité était de 35,1 ‰.

On peut constater qu'après 30 minutes d'expériences, l'eau, trouble et bleutée dans les expériences avec E. coli au début, est redevenue limpide.

Comme nous l'avons signalé plus haut la coloration bleue des bactéries, due au virage du Bromocrésol en milieu basique, (l'eau de mer), à l'avantage de permettre une reconnaissance visuelle rapide des concentrations bactériennes.

Nous avons ainsi pu observer, après 30 minutes d'expériences, de nombreux pseudofécès de couleur bleue sur le fond de l'aquarium. A 15 minutes et 30 minutes, deux animaux étaient prélevés et coupés en deux dans le plan saggital, permettant d'observer la couleur bleutée du bol alimentaire dans l'intestin contourné et l'estomac. Après 1 heure d'expérience, c'est l'intestin récurrent qui apparait bleu, jusqu'à la hauteur du coeur environ. La glande digestive n'apparait pas bleutée. A 2 heures, l'estomac parait vert pâle ; l'intestin contourné est toujours bleu ainsi que l'intestin récurrent et le rectum.

Entre 2 et 3 heures on peut voir sortir les premiers fécès colorés en bleu.

Après 16, 18, 20, 22, 24 et 42 heures d'expériences, le tube digestif n'apparait plus coloré en bleu.

3.2. Observations microscopiques

L'observation en microscopie photonique de différentes coupes de palourdes passant, dans deux plans perpendiculaires au plan saggital, par l'estomac, les diverticules digestifs et l'intestin contourné et récurrent permet de confirmer les résultats (planches 30 et 31).

Après 30 minutes d'expériences, les très nombreuses bactéries, colorées en bleu foncé par la coloration de Mann Dominici, ont atteint l'intestin contourné.

Dans l'intestin récurrent, on observe toujours le bol alimentaire normal (débris alimentaire, tests de diatonnées, phagocytes rejetés,...).

Après 1 heure, les bactéries atteignent en grand nombre l'intestin récurrent. La concentration en bactérie est par contre moins grande dans l'estomac.

Après 2 heures d'expérience, on observe très peu de bactéries dans l'estomac tubulaire. Les quantités de bactéries diminuent dans l'intestin contourné.

On note d'autre part que l'examen au microscope des pseudo-fécès déposés dans l'aquarium révèle la présence d'un grand nombre de bactéries englobées dans du mucus.

Après 16, 18, 20, 22 et 48 heures, les résultats sont sensiblement identiques : peu ou pas de bactéries dans l'estomac, aucune dans les diverticules digestifs, peu dans l'intestin contourné et récurrent. On remarque que les bactéries semblent englobées dans un mucus, formant de longues chaînes accolées épousant grossièrement la forme du tube digestif (photo 5 et 6, pl. 31).

Au niveau des branchies, on peut remarquer les deux premières heures, des bactéries piégées par les cils eu-latéro-frontaux. Leur nombre sur coupe ne dépasse guère 3 ou 4 bactéries par filament branchial. Nous n'avons pas observé de bactéries dans les espaces libres sous filamenteux délimités par les feuillets branchiaux réfléchis et directs.

Les expériences utilisant Micrococcus marina seule ou E. coli plus M. marina, ont apporté des résultats identiques exceptées les remarques suivantes :

1) On retrouve quelques M. marina infiltrées entre les filaments branchiaux sur certains individus durant les 2 premières heures.

2) Entre 18 et 24 heures, et à 42 heures, on peut observer chez de nombreuses palourdes, un grand nombre de M. marina infiltrées dans l'épithélium intestinal de la portion convexe de l'intestin contourné ; cet épithélium est remarquable par ailleurs par le nombre faible ou nul de mucocytes présents, alors que les mucocytes sont partout présents le long du tube digestif, et notamment dans la partie concave de l'intestin contourné, faisant face à l'épithélium observé.

Celui-ci est un épithélium dense à cellules ciliées, hautes et à bordure en brosse, ressemblant un peu aux cellules de l'épithélium stomacal. Les bactéries sont observables par petits paquets, dans la partie apicale des cellules, juste sous la bordure en brosse, dans des sortes de vacuoles (photos 3 et 4, pl. 32).

L'examen des micrographies électroniques des bactéries E. coli et M. marina ayant séjourné 3 heures en eau de mer (salinité : environ 30 ‰) ont permis de préciser la taille et la morphologie de ces bactéries (photo 5, pl. 24).

E. coli : de 3,5 à 5,5 μ de long sur 0,8 à 1 μ de large.

M. marina : taille plus constante avec environ 0,8 μ de diamètre.

On remarque d'autre part la paroi épaisse de M. marina (0,05 μ environ) et la vacuolisation du cytoplasme de la majorité des E. coli.

On note également l'absence de paroi chez E. coli et la relative fréquence des diplocoques de M. marina.

4. Discussion

4.1°) Efficacité de la filtration

Quelques auteurs (OWEN et CRAE, 1976 ; JORGENSEN, 1981) ont pu récemment, grâce à la microscopie électronique à balayage, apporter des précisions sur la structure ciliaires des filaments branchiaux et ainsi élaborer des théories intéressantes sur les méthodes de filtration et d'alimentation des mollusques bivalves.

Comme nous l'avons précédemment décrit, les cils eu-latéro-frontaux, groupés pour former ce qu'OWEN (1976) appelle les "cirres" eu-latéro-frontaux, sont les principaux éléments actifs dans la filtration des particules apportées au contact des branchies par les courants ciliaires intra-palléaux.

La position et la structure de ces cirres forment un tamis dont la maille peut être évaluée à 0,25 μ et l'on comprend aisément l'efficacité de cette structure dans la filtration des bactéries E. coli dont la taille est environ 10 fois supérieure.

Néanmoins, le fait que l'on trouve parfois quelques bactéries M. marina infiltrées dans les filaments branchiaux prouve que les possibilités de ce système peuvent se trouver limitées face à des particules dont la taille est à peine supérieure à la maille formée par les cils eu-latéro-frontaux. Malgré ceci la grande quantité de M. marina retrouvée dans le tractus digestif atteste de l'efficacité

de la filtration. On peut noter, à titre de comparaison, que ATTREE-PIETRI et AUBERT (1979), n'observent pas un taux de bactériophages supérieur à celui du milieu ambiant chez Ostrea edulis. La très petite taille de ces germes explique sans doute cette absence de concentration. Il est remarquable de constater que les cirres microscopiques des filaments branchiaux, possèdent une ressemblance anatomique frappante avec les cirres macroscopiques (les appendices thoraciques biramés) des Cirripèdes dont les fonctions sont analogues (GRASSE et coll., 1970).

Partant de deux structures différentes (les cils des branchies des Mollusques bivalves et les appendices thoraciques des Crustacés), on aboutit à une convergence des formes, à travers une fonction commune : la filtration active des particules en suspension dans l'eau.

Afin de mieux comprendre l'efficacité de la filtration des microparticules en suspension par les palourdes, il nous apparaît intéressant de relater ici une petite expérience complémentaire simple et rapide que nous avons menée à titre informatif.

Dans un bocal muni d'un bulleur, contenant 2 litres d'eau, et où étaient placées 3 palourdes filtrant, nous avons ajouté une solution bactérienne (E. coli) suivant le protocole déjà décrit. Nous avons prélevé quelques millilitres d'eau à différents temps, et nous avons lu les concentrations bactériennes sur cellule de Thomas. L'action du bulleur suffisait à homogénéiser le milieu. Les résultats sont portés sur la fig. 2, page 62.

Bien que limitée, cette expérience prouve néanmoins l'excellent pouvoir de filtration des palourdes. A noter que les premiers fécès bleutés sont apparus au bout de 3 heures environ.

Il est d'autre part intéressant de constater que l'ensemencement d'un millilitre de l'eau du bocal après 24 heures d'expérience sur milieu gélosé E.M.B. n'a pas révélé la présence d'Escherichia coli.

4.2°) Production de pseudo-fécès

Le rejet de pseudo-fécès, observé dès les premières trente minutes d'expérience, est un phénomène déjà remarqué (FORSTER-SMITH,

1975 ; QUILLIEN-MONOT *, 1978 ; JORGENSEN, 1981) chez les mollusques bivalves filtrant des concentrations importantes de particules en suspension.

Lors de nos expériences, nous n'avons pas essayé d'ensemencer dans les aquariums des quantités connues de bactéries, mais nous avons essayé de déterminer la concentration bactérienne de l'eau de l'aquarium, après ensemencement d'un volume connu de la culture bactérienne dont la concentration avait été déterminée par la lecture directe sur cellule de Thomas.

Cette méthode, bien que plus fastidieuse nous a paru plus fiable que les méthodes dites du NPP (Nombre le Plus Probable) par ensemencement de différentes dilutions bactériennes sur milieu nutritif et lecture des tubes positifs.

Nous avons ainsi pu observer que les concentrations en bactéries juste après ensemencement avaient varié de 17.10^5 bactéries par ml pour *E. coli* à 12.10^6 ml pour *M. marina*.

Ces concentrations bactériennes énormes conduisent les palourdes à rejeter l'excédent de particules filtrées sous formes de pseudo-fécès muqueux où les bactéries se trouvent piégées, le mucus consolidant suffisamment les pseudo-fécès (JORGENSEN, 1981) pour faciliter le rejet.

Il est fort probable que l'épithélium cilié et muqueux de la partie distale du pied est également impliqué dans ce phénomène.

Nous avons pu observer, sur des palourdes conservées en aquarium (ce qui ne correspond d'ailleurs pas aux conditions naturelles d'enfouissement de ces animaux) le comportement de rejet des pseudo-fécès.

Il existe deux voies de rejet : soit par le siphon inhalant soit par la bordure palléale libre (ventrale).

- le premier cas correspond au rejet, relativement rapide (10 à 20 secondes) de grosses particules aspirées par le siphon inhalant (ex. gros débris d'algues). Elles ne sont pas englobées en mucus.

* QUILLIEN-MONOT note une production de pseudo-fécès à partir d'une concentration algale de 10^5 cel./ml.

- le second cas correspond à un rejet beaucoup plus tardif de particules plus fines enrobées de mucus (ciliés, nématodes, bactéries, grosses cellules de phytoplancton). C'est ce dernier phénomène qui survenait dans les expériences de bactériologie.

Dans les deux cas, le rejet final dans le milieu externe se fait grâce à un violent courant d'eau résultant d'une surpression intrapalléale.

Pour rejeter les particules indésirables par le siphon, inhalant, la palourde ferme son siphon exhalant puis son siphon inhalant par constriction distale des siphons, provoque une surpression dans la cavité palléale par contraction presque isométrique des muscles adducteurs intervalvaires puis ouvre brutalement le siphon inhalant par lequel les particules sont expulsées violemment.

Pour rejeter les particules par le bord libre de la cavité palléale, le processus est presque identique : gardant ses siphons fermés, la palourde rétracte les bords du manteau sur quelques millimètres laissant passer un courant d'eau expulsant les pseudo-fécès muqueux.

Comment peuvent se former les pseudo-fécès ?

JORGENSEN (1981) a démontré que la section du sillon marginal des feuilletts branchiaux étant limitée et la vitesse des courants ciliaires constante, la quantité de matière en suspension filtrée et acheminée vers la bouche était obligatoirement limitée.

Ce phénomène semblerait indiquer que la régulation de filtration des particules en suspension se fait passivement. L'excédent de particules filtrées, ne pouvant être acheminé par les gouttières marginales des branchies, tombe dans la cavité palléale et est repris par les courants ciliaires (épithélium ciliés du manteau et du pied), agglomérées par les sécrétions muqueuses des nombreuses glandes situées dans le pied et acheminées vers les bords libres du manteau, les particules excédentaires sont ensuite expulsées sous forme de pseudo-fécès.

On peut noter que FOSTER-SMITH (1975) observe que Tapes pullasta, espèce relativement proche de R. decussatus régule l'absorption d'algues microscopiques (Phaeodactylum) par réduction du taux de filtration plutôt que par production de pseudo-fécès.

4.3°) Transit intestinal

La vitesse du transit intestinal est remarquable. L'apparition des premiers fécès bleutés, attestant la présence de bactéries E. coli, environ trois heures après le début d'expérience, prouve que la progression du bol alimentaire est très rapide.

Les courants ciliaires semblent être les principaux éléments moteurs du transit intestinal. Seule la partie distale du tube digestif, le rectum, possède une musculature longitudinale et circulaire nécessaire aux mouvements péristaltiques. Il est évident que dans cette partie intestinale, où les fécès sont beaucoup plus compacts, les courants ciliaires seuls ne suffisent plus à assurer le transit.

La filtration des bactéries, le transport vers la bouche, puis l'oesophage, l'estomac et l'intestin contourné sont très rapides (30 minutes) puis le transit se ralentit au fur et à mesure que le bol alimentaire se compacte et se charge des sécrétions muqueuses épithéliales ; il envahit l'intestin récurrent au bout d'une heure : dans le même temps (30 minutes), il n'a donc parcouru que le quart ou le cinquième du chemin déjà effectué les trente premières minutes ; il lui faut ensuite environ une heure pour déboucher du rectum dont la longueur est sensiblement égale à celle de l'intestin récurrent.

Au bout de deux heures, l'estomac est beaucoup moins chargé en bactéries ; d'autre part, l'eau de l'aquarium a repris sa clarté première très vite. Ceci, augmenté de l'observation des premiers pseudo-fécès après 30 minutes d'expériences, prouve que la filtration est effective et massive dès le début de l'expérience ; les palourdes ne semblent pas pouvoir contrôler le débit d'eau filtrées pour diminuer la quantité de bactéries retenues par les branchies. Comme nous l'avons signalé plus haut, le seul régulateur consisterait en la production de pseudo-fécès. Ainsi, la majorité des quelques un million à dix millions de bactéries par millilitre est filtrée durant les deux premières heures, et les premières bactéries ont totalement traversé l'intestin au bout de 3 heures.

Chez Lasco rubra, MORTON (1956, in PURCHON, 1977) observe un transit intestinal d'une dizaine d'heures environ. Mais ces animaux, originaires de l'Atlantique, étaient soumis au régime des marées et présentaient une périodicité des phénomènes digestifs.

Dans notre cas, les animaux, tous originaires de la Méditerranée ne pouvaient pas présenter de phénomènes digestifs corrélés avec la marée ; nous avons cependant pu observer que les animaux filtraient très peu ou pas du tout le matin ; les premiers signes d'une active filtration (siphons largement étendus et courants d'eau bien visibles), n'apparaissaient qu'à la mi-journée. Observé en aquarium, nous ne pouvons préjuger que ce phénomène se produit réellement dans la nature ; si tel est le cas, il faut cependant remarquer que, d'un point de vue sanitaire, cette constatation est inquiétante, puisque cette partie de la journée correspond à l'un des trois pics observé dans les pollutions bactériologiques journalières d'origine urbaine ("Pollution de l'estuaire de la "Sienne". Rapport DDE-DDASS-ISTPM, 1982). Ce phénomène nous a d'ailleurs obligé à ne commencer nos expériences qu'à la mi-journée.

Si un premier transit massif semble intervenir rapidement durant les premières heures, avec un bol alimentaire très chargé en bactéries, on observe durant la vingtaine d'heures suivant un éclaircissement de ce bol, avec un rapport nombre de bactérie sur volume de mucosités, fortement décroissant (photo 5 et 6 pl. 31). Cette relative importance des mucosités intestinales observée bien après le début de l'expérience pourrait indiquer que la sécrétion muqueuse intervient avec un certain temps de latence, après l'apport massif des bactéries (photo 5, pl. 31).

On note en effet qu'après 30 minutes, les bactéries, bien que très concentrées semblent peu agglomérées entre elles (photo 1, pl. 32).

Il est probable que ce transit intestinal résiduel s'effectue plus lentement et prenne plusieurs dizaines d'heures.

Ceci corrobore les phénomènes observés sur les cinétiques de décontamination des coquillages en eau de mer ozonée ou chlorée, où après un chute rapide de la colimétrie, on remarque une diminution beaucoup plus lente de la concentration en germes (FAUVEL, 1967).

FORSTER-SMITH (1975) observe chez Tapes pullastra nourrie par des concentrations élevées d'algues (jusqu'à 370 000 cellules/ml) une émission des premiers fécès au bout de 1 à 2 heures, et la présence d'algues dans les fécès, 15 à 18 heures après la fin de l'alimentation expérimentale, ce qui confirme nos observations.

Les observations présentes prouvent que la contamination bactérienne est très rapide et que la vitesse du transit intestinal semble dépendre de la concentration du bol alimentaire, elle même dépendante de la concentration bactérienne du milieu.

4.4°) Absorption de bactéries

La présence de bactéries *M. marina* dans une partie restreinte de l'épithélium intestinal demanderait confirmation en microscopie électronique. Un seul cas, douteux donc non retenu, a pu être observé au bout de 3 heures dans les expériences avec *E. coli*. On peut noter qu'une absorption après digestion extracellulaire partielle ne serait pas impossible, Mc HENERY (1979) ayant mis en évidence la présence de lysozyme, efficace contre des souches de Streptocoques, dans le stylet cristallin de *Mytilus edulis*. Nous avons, d'autre part, quelquefois observé la présence de fragments de tests de diatomées dans l'épithélium de la partie convexe de l'intestin contourné.

Ce phénomène d'absorption, s'il est réel, ne pourra réellement être mis en évidence qu'avec l'emploi de souche bactériennes typiques et visualisation du phénomène en microscopie électronique. Le principal problème à surmonter est la dissection de la portion intéressante de l'intestin contourné.

5. Conclusions

Un certain nombre de conclusions, dont certaines corroborent des travaux précédents, peuvent être tirées des expériences menées :

- on note l'extrême efficacité de l'organe de filtration, vis à vis de particules de très petites taille (de 1 à 5 μ environ), et dont l'explication a été donnée par l'étude du filament branchial,

- on peut affirmer que les bactéries filtrées se concentrent naturellement dans le tube digestif,

- les fortes concentrations bactériennes (supérieures à 10^7 bactéries par ml) conduisent à l'élimination de l'excédent sous formes de pseudo-fécès. On remarque d'autre part qu'à

forte concentration, les bactéries n'atteignent pas les diverticules digestifs, ce qui confirme les observations de WIDDONS et BAYNE (1972) avec des cultures phytoplanctoniques.

- de fortes concentrations de bactéries non pathogènes n'ont pas d'effet néfaste sur les palourdes,

- le vitesse de transit intestinal semble décroître avec la densité bactérienne, et expliquerait le lenteur de la décontamination bactérienne en fin de purification des coquillages (FAUVEL 1967), où l'élimination de la population bactérienne résiduelle semble difficile à atteindre,

- Escherichia coli d'origine entérique semble très sensible aux variations de pression osmotique engendrée par son passage en eau de mer.

On peut remarquer qu'on ne peut préjuger ici du comportement de R. decussatus en milieu naturel, les fortes concentrations bactériennes (10^7 à 10^8 bactéries par ml) étant supérieures aux concentrations, même fortes, habituellement rencontrées en milieu estuarien ou lagunaire (10^5 à 10^6 bactéries par ml).

Ces expériences, qui appellent d'autres expérimentations complémentaires, ont néanmoins précisé des points importants de la physiologie de R. decussatus.

VIII CONCLUSIONS GENERALES. RECHERCHES PROSPECTIVES

Nous avons pu préciser au cours des chapitres précédents des points importants de l'anatomie et de la physiologie d'un mollusque bivalve fouisseur d'intérêt commercial grandissant. Il reste néanmoins à confirmer, ou compléter certaines observations. Il serait ainsi intéressant de confirmer la structure ciliaire du filament branchial en microscopie électronique à balayage, puis la comparer à celle d'autres mollusques bivalves commercialement exploités (Crasostrea gigas, Cerastoderma edule, etc...). L'intérêt scientifique de la comparaison interspécifique se double ici d'un intérêt sanitaire, comme nous l'avons exposé plus haut.

Toujours dans un but sanitaire, il serait nécessaires de poursuivre les expériences bactériologiques, en précisant certains aspect du transit intestinal :

1 - Visualisation en microscopie électronique des phénomènes d'absorption des bactéries par l'épithélium microvillaire de l'intestin contourné. Compte-tenu de la faible étendue de la portion considérée, on se heurte ici à des problèmes de prélèvements.

2 - A plus faible concentration bactérienne, la glande digestive absorbe-t-elle les bactéries ?

3 - Poursuite d'expériences bactériologiques similaires avec d'autres espèces de coquillages (huîtres, coques, praires, tellines, etc...) et de bactéries, éventuellement pathogènes pour l'homme (Vibrio parahaemolyticus, Salmonella typhi, etc...). On pourra ainsi confirmer le pouvoir infestant ou le taux de survie de tels germes après ou pendant le transit intestinal. Il faut néanmoins remarquer que l'obtention de souches d'animaux axeniques, ainsi que le prélèvement de portions d'organes dans des conditions stériles est difficile.

La parasitologie devra être poursuivie, en particulier sur d'autres gisement, et étendue aux coquillages d'origine étrangères ainsi qu'à l'espèce voisine (Ruditapes philippinarum) dont l'élevage est en pleine extension.

Il est important qu'une recherche pathologique prospective soit mise en place en France.

Il serait nécessaire d'étudier le comportement et l'évolution des parasites infestant les coquillages d'origine étrangère

après les avoir placé, en milieu totalement fermé, dans des conditions hydrologiques identiques à celles de nos eaux littorales.

Cette recherche doublée de la mise au point de mesures prophylactiques et de mesures d'éradication des maladies connues, viendra ainsi compléter efficacement toutes les études parasitaires.

B I B L I O G R A P H I E

- AKBERALI H.B., 1980- Problems of haemolymph sampling in bivalve molluscs.
Mar.Biol.Letters, 1, p.161-166.
- ALDERMAN D.J. et GARETH JONES E.B., 1971- Shell disease of oysters.
Fish.Invest., Ser.II, 26, n°8, p.1-17.
- AMANIEU M., BALEUX B., GUELORGET O., MICHEL P. 1975- Etude biologique et hydrologique des étangs littoraux méditerranéens en vue de définir les circonstances d'apparition des crises dystrophiques.
Vie etMilieu, 25, 2-B, p.175-204.
- ARNOULD C. et BOUCHEZ-DECLOUS N., 1978- Méthodes histoenzymologiques pour la détection de cellulase, de chitinase et de laminarinase.
Application au bouclier gastrique du mollusque bivalve Scrobicularia plana. Histochemistry, 56, p.45-54.
- ATTREE-PIETRI C. et AUBERT J., 1979- Etude de la contamination expérimentale d'huitres par des bactériophages.Rev.Int.Océanogr.Méd.,53-54,P.71-76.
- BARTOLI P., 1972- Les cycles biologiques de Gymnophallus nereicola(J. Rebecq et G. Prévot, 1962) et Gymnophallus fossarum(P. Bartoli, 1965), espèces jumelles parasites d'oiseaux marins. Ann.Parasitol.(Paris) 47, 2, p.193-223.
- BARTOLI P., 1973- Les microbiotopes occupés par les métacercaires de Gymnophallus fossarum (P. Bartoli, 1965), (Trematoda Gymnophallidae) chez Tapes decussatus L.. Bull.Mus.Nat.Hist.Nat., Paris(3^e Sér.)117, (91), p.335-349.
- BARTOLI P., 1976- Modification de la croissance et du comportement de Venerupis aurea, parasité par Gymnophallus fossarum(P.Bartoli, 1965), (Trematoda, Digenea). "Ecophysiologie des mollusques marins et d'eaux saumâtres", Haliotis, 7, p.23-28.
- BAYNE C.J., 1974-On the immediate fate of bacteria in the land snail Helix.
In : Contemporary Topics in Immunobiology, vol.4, p.37-45.
- BONAMI J.R., GRIZEL H., VAGO C. et DUTHOIT J.L., 1971- Recherches sur une maladie épizootique de l'huitre plate Ostrea edulis L.. Rev.Trav.Inst. Pêches Marit., 35, n°4, p.415-418.

- BONAVENTURA, J., 1975- Hemoglobins and hemocyanins: Comparative aspects of structure and functions. *J. Exp. Zool.*, 194, p. 155-174.
- BOURY M. et BORDE J., 1964- La contamination bactérienne des coquillages. C.I.E.S.M., Monaco, Avril 1964, p. 251-264.
- BOUXIN H., 1936- Technique d'élevage de deux palourdes comestibles: Tapes decussatus et Tapes pullastra Wood. *Rev. Trav. Off. Pêches mar.*, 9, p. 101-113
- BRISOU J., 1978- Situation sanitaire et qualité des plages, zones récréatives et fruits de mer sur les rives de la Méditerranée. *Ocean Management*, 3, p. 191-203.
- BUCHANAN J.S., 1977- Studies on some intracellular parasites of the marine bivalve Tellina tenuis (Da Costa). Ph.D. Thesis, Univ. Stirling, Ecosse.
- BUCHANAN J.S., 1978- Cytological studies on a new species of rickettsia found in association with a phage in the digestive gland of a marine bivalve mollusc, Tellina tenuis (Da Costa). *J. Fish Diseases*, 1, p. 27-43.
- CAHOUR A., PODER M., BALOUET G., 1980- Présence de Minchinia armoricana (Haplosporea, Haplosporida) chez Ostrea edulis d'origine française. *C.R. séances Soc. Biol.*, 174, n°3, p. 359-368.
- CAUMETTE P., 1978- Participation des bactéries phototrophes sulfo-oxydantes dans le métabolisme du soufre en milieu lagunaire méditerranéen (Etang du Prevost) - Etude des crises dystrophiques (Malaigues). Thèse Doct. 3° cycle. Spécialité Ecologie Aquatique. USTL Montpellier.
- CAUMETTE P., BALEUX B., 1980- Etude des eaux rouges dues à la prolifération des bactéries photosynthétiques sulfo-oxydantes dans l'étang du Prevost, lagune saumâtre méditerranéenne. *Mar. Biol.*, 56, p. 183-194.
- CHENG T.C., 1967- Marine molluscs as hosts for symbioses. *Advances in Marine Biology*. Vol. 6.
- CHENG T.C. et CALI A., 1974- An electron microscope study of the fate of bacteria phagocytized by granulocytes of Crassostrea virginica. *Contemp. topics in Immunobiol.*, 4, p. 25-36.
- COMPS M., 1970- Observations sur les causes d'une mortalité anormale des huitres plates (Ostrea edulis) dans le bassin de Marennes. *Cons Inter. Explor. Mer*, C.M., 1970, K:4.

- COMPS M., RAZET D. et QUIROS-RAMOS H., 1973- Protiste parasite de l'huitre du Pacifique, Crassostrea gigas Thunberg .C.R.Acad.Sc.Paris, 277, Série D, p.2797-2799.
- COMPS M., GRIZEL H., TIGE G. et DUTHOIT J.L., 1975- Parasites nouveaux de la glande digestive des Mollusques marins Mytilus edulis L. et Cardium edule L..C.R.Acad.Sc.Paris, 281, p.179-181.
- COMPS M., 1976- Marteilia lengehi N.Sp., parasite de l'huitre Crassostrea cucullata Born .Rev.Trav.Inst.Pêches marit., 40, (2), p.347-349.
- COMPS M., 1975-Etude expérimentale de différentes conditions de milieu sur le comportement du parasite de la glande digestive de l'huitre plate (Ostrea edulis L.).Haliotis, 5, p.68-73.
- COMPS M., BONAMI J.R., VAGO C. et CAMPILLO A., 1976- Une virose de l'huitre portugaise (Crassostrea angulata Lmk).C.R.Acad.Sc.Paris, 282, n°22, Sér.D, p.1991-1993.
- COMPS M. et DUTHOIT J.L., 1976- Infection virale associée à la "maladie des branchies" de l'huitre portugaise Crassostrea angulata Lmk.C.R.Acad.Sc.Paris, 283, Sér.D, p.1595-1596.
- COMPS M., BONAMI J.R. et VAGO C., 1977- Mise en évidence d'une infection rickettsienne chez les huitres.C.R.Acad.Sc.Paris, 285, Sér.D, p.427-429.
- COMPS M. et BONAMI J.R., 1977-Infection virale associée à des mortalités chez l'huitre Crassostrea gigas Thunberg.C.R.Acad.Sc.Paris, 285, Sér.D, p.1139-1140.
- COMPS M. et MASSO R.M., 1978- Study with fluorescent technique of the virus infections of the portuguese oyster Crassostrea angulata Lmk.Progress in Invertebrate Pathology-Proceedings of the international colloquium on Invertebrate pathology and XI annual Meeting-Society for Invertebrate Pathology, 11-17 Sept.1978, Prague.
- COMPS M. et RAIMBAULT R., 1978- Infection Rickettsienne de la glande digestive de Donax trunculus L.. Sciences et Pêche, Bull.Inst.Pêches marit., 281, p.11-12.
- COMPS M., 1978- Evolution des recherches et études récentes en pathologie des huitres.Oceanologica Acta, 1, (2), p.255-262.

- COMPS M., 1979- Etude du cycle de Marteilia refringens dans l'étang de Thau. Cons. Int. Explor. Mer, C.M./F:19, Comité de la Mariculture (Crustacés et Mollusques), 5p..
- COMPS M. et DELTREIL J.P., 1979- Un microorganisme de type rickettsien chez l'huitre portugaise Crassostrea angulata Lmk. C.R. Acad. Sc. Paris, 289, Sér. D, p. 169-171.
- COMPS M., 1979- Un microorganisme de type rickettsien chez le mollusque Donax trunculus L.. Rapp. Comm. int. Mer Médit., 25-26, n°6, p. 35-36.
- COMPS M., RAZET D. et COUSSERANS F., 1979- Infection chlamydienne chez le lavignon Scrobicularia piperata P. du bassin de Marennes-Oléron. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 43, n°4, p. 413-415.
- COMPS M., TIGE G. et GRIZEL H., 1980- Etude ultrastructurale d'un Protiste parasite de l'huitre Ostrea edulis L.. C.R. Acad. Sc. Paris, 290, Sér. D, p. 383-385.
- COMPS M. et JOLY J.P., 1980- Contamination expérimentale de Mytilus gallo-provincialis Lmk par Marteilia refringens. Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit., 301, p. 19-21.
- COMPS M., 1980- Mise en évidence par fluorescence du virus de la maladie des branchies de l'huitre portugaise Crassostrea angulata Lmk. Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit., 301, p. 17-18.
- COMPS M., PICHOT Y. et DELTREIL J.P., 1979(1981)- Mise en évidence d'une microsporidie parasite de Marteilia refringens, agent de la maladie de la glande digestive de Ostrea edulis L.. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 43, n°4, p. 409-412.
- COUSSERANS F., BONAMI J.R., COMPS M. et GRIZEL H., 1974- Développement de protistes parasites en culture cellulaire de l'huitre japonaise Crassostrea gigas Th.. C.R. Acad. Sc. Paris, 279, Sér. D, p. 2119-2121.
- DAVIDS C., 1965- The influence of suspensions of microorganisms of different concentrations on the pumping and retention of food by the mussel (Mytilus edulis L.). Neth. J. Sea Res., 2, p. 233-249.
- ELSTON R., 1979- Viruslike particles associated with lesions in larval Pacific Oysters (Crassostrea gigas). J. Invertebr. Pathol., 33, p. 71-74.
- FARLEY C.A., 1967- A proposed life cycle of Minchinia nelsoni (Haplosporida, Haplosporidiidae) in the American oyster Crassostrea virginica. J. Protozool., 14, n°4, p. 616-625.

- FARLEY C.A., BANFIELD W.G., KASNIC G.K. et FORSTER W.S., 1972- Oyster herpes-type virus. *Science*, 178, p.759-760.
- FAUVEL Y., 1967- La pollution bactérienne des eaux et des coquillages de l'étang de Thau. *Rev.Trav.Inst.Pêches marit.*, 31, n°1, p.3-96.
- FENG S.Y., 1967- Response of molluscs to foreign bodies, with special reference to the oyster. *Federation Proceedings*, 26, n°6, p.1685-1692.
- FONT W.F., 1980- Effects of Hemolymph of the american oyster Crassostrea virginica, on marine Cercariae. *J.Inverteb.Pathol.*, 36, p.41-47.
- FOSTER-SMITH R.L., 1975- The effect of concentration of suspension and inert material on the assimilation of algae by three bivalves. *J.Mar.biol. Ass.U.K.*, 55, p.411-418.
- FORSTER-SMITH R.L., 1975- The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for Mytilus edulis(L.), Cerastoderma edule(L.) and Venerupis pullastra(Montagu). *J.exp.mar. Biol.Ecol.*, 17, p.1-22.
- FORSTER-SMITH R.L., 1975- The role of mucus in the mechanism of feeding in three filter-feeding bivalves. *Proc.malac.Soc.Lond.*, 41, p.571-588.
- FRANC A. et ARVY L., 1970- Données sur l'évolution de la "maladie des branchies" chez les huitres et sur son agent causal: Thanatostrea polymorpha (Franc et Arvy 1969). *Bull.Biol.*, 1, n°2, p.2-19.
- FRENKIEL L., 1980- Les organes sensoriels chez les lamellibranches. *Ann.Biol.* 19, (2), p.147-162.
- GALLOIS D., 1973- Etude de deux Veneridae de l'Etang de Thau: Venerupis decussata et venerupis aurea. Thèse de Docteur de Spécialité-Biologie appliquée, option écologie-Faculté des Sciences D'Orleans.
- GIARD A., 1894- Sur une affection parasitaire de l'huitre (Ostrea edulis L.) connue sous le nom de maladie du pied. *C.R.Séanc.Soc.Biol.*, 46, p.401-403.
- GRAS M.P. et GRAS P., 1981- Aquaculture de bivalves en claires dans le bassin de Marennes-Oleron. *Science et Pêche, Bull.Inst.Pêches marit.*, 314, p.1-30.
- GRASSE P.P., POISSON R.A. et TUZET O., 1970- Précis de zoologie; Tome I : Invertébrés. *Précis de Sciences Biologiques*-Masson et Cie, éditeurs, Paris.

- GRIZEL H. et TIGE G., 1973- La maladie de la glande digestive d'Ostrea edulis L..Cons.Int.Explor.Mer,C.M.1973/K:13,ronéo,7p..
- GRIZEL H.,COMPS M.,COUSSERANS F.,BONAMI J.R. et VAGO C.,1974- Etude d'un parasite de la glande digestive observé au cours de l'épizootie actuelle de l'huitre plate.C.R.Acad.Sc.Paris,279,Sér.D,p.783-784.
- GUTIERREZ M.,1978- Cercaria tenuans y Marteilia refringens en un ejemplar de mejillon Mytilus edulis(L.) de la costa noro este de Espana.Inv. Pesq.,42,(2),p.467-470.
- HASKIN H.H.,STAUBER L.A. et MACKIN J.G.,1966- Minchinia nelsoni n.sp. (Haplosporida,Haplosporidiidae):causative agent of the Delaware Bay oyster epizootie.Science,153,p.1414-1416.
- HARSHBARGER J.C.,CHANG S.C. et OTTO S.V.,1977- Chlamydiae (with Phages), mycoplasmas and Rickettsiae in Chesapeake Bay Bivalves.Science,196, p.666-668.
- HENRY M.,VICENTE N. et CORNET C.,1981- Analyse ultrastructurale du filament branchial d'un mollusque bivalve Cerastoderma glaucum (Poiret 1789). Association particulière avec des microorganismes.Haliotis,11,p.101-114.
- HERBACH B.,1971- Sur une affection parasitaire de la glande digestive de l'huitre plate Ostrea edulis L..Rev.Trav.Inst.Pêches marit.,35,n°1, p.79-87.
- HIGGINS P.J.,1980- Effects of food availability on the valve movements and feeding behavior of juvenile Crassostrea virginica Gmelin.II:Feeding rates and behavior.J.Exp.mar.Biol.Ecol.,46,p.17-27.
- JENNINGS J.B. et LE FLORE W.B.,1979- Occurrence and possible adaptative significance of some histochemically demonstrable dehydrogenases in two entosymbiotic rhabdocoels(Platyhelminthes:Turbellaria).Comp. Biochem.Physiol.,Vol.62B,p.301-304.
- JOLY J.P. et COMPS M.,1979- Etude ultrastructurale d'une Haplosporidie parasite de la palourde Tapes decussatus L..Cons.Inter.Explor.Mer, Comité de la Mariculture,C.M.1979/F:20,ronéo,4P..
- JOLY J.P. et COMPS M.,1980(1982)- Etude d'un microorganisme de type chlamydien chez la palourde Ruditapes decussatus.Rev.Trav.Inst. Pêches marit.,44,n°3,p.285-287.

- JONES J.B., 1981- A new Microsporidium from the Oyster Ostrea lutaria in New Zealand. *J. Invertebr. Pathol.*, 38, p. 67-70.
- JØRGENSEN C.B., 1981- Feeding and cleaning mechanisms in the suspension feeding bivalve Mytilus edulis. *Mar. Biol.*, 65, p. 159-163.
- KORRINGA P., 1948- Shell disease in Ostrea edulis, its dangers, its cause, its control. *Conv. Add. Nat. Shellfish Ass.*, 1948, p. 86-94.
- LATROUITE D. et CLAUDE S., 1976- Elevage en surélévation des Vénéridés (Mercenaria mercenaria, Ruditapes decussatus, Venerupis japonicus) en rivièrre de la Trinité-sur-Mer, Bretagne Sud. *Cons. Int. Explor. Mer*, 1976, C.M./E:7.
- LATROUITE D. et PERODOU D., 1979- Bilan des essais d'élevage de la palourde sur le littoral morbihanais. *Rapport de l'I.S.T.P.M. au C.I.C.*, 39p..
- LUBET P., 1959- Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les Mytilidés et les Pectinidés (Mollusques bivalves). *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 23, n°4, p. 387.
- LUCAS A., 1969- Remarques sur l'hermaphrodisme juvénile de quelques Veneridae (Bivalvia). *Malacologia*, 9, n°1, p. 275-276.
- LUCAS A., 1977- Culture of the Manilla Clam (Venerupis semidecussata Reeve) from hatchery-reared spat. *Actes de colloques du C.N.E.X.O.*, 4, p. 317-330.
- Mc HENERY J.G. et BIRKBECK T.H., 1979- Lysozyme of the mussel, Mytilus edulis (L.). *Marine Biol. Letters*, 1, p. 111-119.
- MACKIN J.G., 1951- Histopathology of infection of Crassostrea virginica (Gmelin) by Dermocystidium marinum Mackin, Owen and Collier. *Bull. Mar. Sci. Gulf Carib.*, 1, p. 72-87.
- MACKIN J.G., 1960- Status of researches on oyster diseases in North America. *Proc. Gulf Carib. Fish. Inst.*, 13th Annu. Sess., p. 98-109.
- MACKIN J.G., 1962- Oyster disease caused by Dermocystidium marinum and other microorganisms in Louisiana. *Publ. Inst. Mar. Sc.*, 7, p. 132-229.
- MAITRE-ALLAIN T., 1979- Croissance comparée de Ruditapes decussatus et de Ruditapes philippinarum (Veneridae, Bivalve) dans un écosystème artificiel. D.E.A. océanographie biologique, Université Pierre et Marie Curie, Paris.

- MALEK E.A. et CHENG T.C.,1974- Parasite induced pathology.In Medical and economic Malacology,Academic Press-New York and London,chap.10, p.204-241.
- MARQUES E.P.,1952- Contribucion al conocimiento histologico del aparato digestivo de Tapes decussatus (L.).Trab.Inst.cienc.nat.Madr.,4,n°2, p.37-111.
- MARTIN Y.,1976- Importance des bactéries chez les mollusques bivalves. Haliotis,7,p.97-103.
- MARTOJA M.,LHONORE J. et ELKAIM B.,1977- Accumulation de métaux et de particules minérales dans les tissus mous de la coque comestible Cerastoderma edule (Mollusque Eulamellibranche);Relation avec le milieu.C.R.Acad.Sc.Paris,t.284, Ser. D, p. 1453-1456.
- MAZIERES J.,1963- Les coliformes dans les eaux marines et les huitres. Application à L'hygiène ostreicole.Rev.Trav.Inst.Pêches marit.,27,n°1, p.3-111.
- MENARD D.,1982- Essai d'élevage de palourdes en Baie des Veys(Normandie). Rapport interne de l'Inspection I.S.T.P.M. de Ouistreham,4p.:
- MENGUS B.,1978- Rôle des bactéries dans l'alimentation de larves de mollusques bivalves marins en élevage expérimentaux.Thèse de Doctorat de 3^e cycle,Spécialité Océanologie,Université d'Aix-Marseille II.
- MEYERS T.R.,1979- Preliminary studies on chlamydial agent in digestive diverticular of hard clams Mercenaria mercenaria L. from Great South Bay,New York.J.Fish Diseases,2,p.179-189.
- MURCHELANO R.A.,1980- Environmental quality and the diseases of Fish and Shellfish.Maritimes,24,p.7-10.
- NARAIN A.S.,1976- A review of the structure of the heart of molluscs,particularly bivalves,in relation to cardiac function.J.Moll.Stud.,42, p.46-62.
- NOUGAREDE A.,1969- Précis de Biologie Végétale;Tome I :Cytologie.Précis de Sciences Biologiques,Masson et Cie édit.,Paris.
- OPRANDY J.J. et coll.,1981- Isolation of a Viral Agent causing Hematopoietic Neoplasia in the Soft-Shell Clam,Mya arenaria.J.Inverteb.Pathol.,38, p.45-51.

- OWEN G. et Mc CRAE J.M., 1976- Further studies on the latero-frontal tracts of Bivalves. Proc.R.Soc.Lond.B, 194, p.527-544.
- PAL S.G., 1971- The fine structure of the digestive tubules of Mya arenaria L., I : Basiphil cell. Proc.malac.Soc.Lond., 39, p.303-308.
- PAL S.G., 1972- The fine structure of the digestive tubules of Mya arenaria L., II : Digestive cell. Proc.malac.Soc.Lond., 40, p.161-170.
- PALOMBI A., 1934- Gli stadi larvali dei Trematodi del Golfo di Napoli. 1 : Contributo allo studio della morfologia, biologia e sistematica delle cercarie marine. Pubblic.Staz.Zool.Napoli, 14, p.1-43.
- PALOMBI A., 1936- Eugymnanthea inquilina; Nuova leptomedusa derivante de un atecato idroide ospite interno di Tapes decussatus L.. Pubbl.Staz. Zool.Napoli, 15, p.159-168.
- PAOLETTI A., 1965 a - Microorganismes pathogènes dans le milieu marin. C.I.E.S.M. Pollutions marines par les microorganismes et les produits pétroliers. Comité des pollutions bactériennes et problème sanitaire des coquillages, Monaco-Avril 1964, p.133-184.
- PAOLETTI A., 1965 b - Les problèmes hygiéniques des coquillages. C.I.E.S.M., Monaco-Avril 1964, p.251-264.
- PARACHE A., 1982- La palourde. La Pêche Maritime, septembre 1982, p.496-507.
- PARTRIDGE J.K., 1977- Littoral and benthic investigations on the West coast of Ireland; VI-Sect.A: Faunistic and Ecological Studies; Annotated bibliographies of the genus Tapes (Bivalvia, Veneridae): Part 1- Tapes decussatus (L.); Part.2- Tapes semidecussatus (Reeve). Proc.Roy.Irish Acad., 77, B, n°1, p.1-64.
- PEQUIGNAT E., 1973- A kinetic and autoradiographic study of the direct assimilation of amino acids and glucose by organs of the mussel Mytilus edulis. Mar.Biol., 19, p.227-244.
- PERKINS F.O., 1969 a - Ultrastructure of vegetative stages in Labyrinthomyxa marina (Dermocystidium marinum), a commercially significant oyster pathogen. J.Invertebr.Pathol., 13, n°2, p.199-222.
- PERKINS F.O., 1969 b - Electron microscope studies of sporulation in the oyster pathogen, Minchinia costalis (Sporozoa : Haplosporida). J.parasitology, 55, p.897-920.
- PERKINS F.O., 1976- Ultrastructure of sporulation in the European flat oyster pathogen, Marteilia refringens; Taxonomic implication. J.Protozool., 23, n°1, p.64-74.

- PERKINS F.O. et WOLF P.H., 1976- Fine structure of Marteilia sidneyi sp.n., Haplosporidan pathogen of Australian oysters. J.Parasitology, 62, (4), p.528-538.
- PERKINS F.O., HAVEN D.S., MORALES-ALAMO R. et RHODES M.W., 1980- Uptake and elimination of bacteria in Shellfish. J.Food Protection, 43, n°2, p.124-126.
- PEYRE R., ZANETTE Y. et HERAL M., 1980- Elevage de palourdes sous filet en milieu fermé. Sciences et Pêche, Bull.Inst.Pêches marit., 307, p.15-18.
- PICHOT Y., COMPS M., TIGE G., GRIZEL H.; RABOUIN M-A, 1979- Recherches sur Bonamia ostrea gen.n., sp.n., parasite nouveau de l'huitre plate Ostrea edulis L. Rev.Trav.Inst.Pêches marit., 43, n°*, p. 131-140.
- PICHOT Y., COMPS M. et DELTREIL J.P., 1979(1981)- Recherches sur Haplosporidium sp. (Haplosporida - Haplosporidiidae), parasite de l'huitre plate Ostrea edulis(L.). Rev.Trav.Inst.Pêches marit., 43, n°4, p.405-408.
- PRIEUR D., 1980- Observations de coupes histologiques en microscopie électronique à balayage : application à l'étude de microorganismes dans le tractus digestif de Mytilus edulis. C.R.Acad.Sc.Paris, 290, n°15, Sér.D, P.1087-1089.
- PRIEUR D., 1981- Les relations entre mollusques bivalves et bactéries hétérotrophes en milieu marin. Etude analytique et expérimentale. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Brest, 266p..
- PURCHON R.D., 1977- The biology of the mollusca-Second Edition. International series of monographs in pure and applied biology. Division Zoology, Pergamon Press, 1978.
- QUILLIEN-MONOT M., 1978- Données sur la production des pseudofécès et l'assimilation de particules alimentaires chez Venerupis semidecussata (Reeve) en élevage expérimental. Haliotis, 9, (1), p.91-94.
- ROBINSON W.E. et LANGTON R.W., 1980- Digestion in a subtidal population of Mercenaria mercenaria (Bivalvia). Mar.Biol., 58, p.173-179.
- RUSSEL W.C., NEWMAN C. et WILLIAMSON D.H., 1975- A simple cytochemical technique for demonstration of DNA in cells infected with mycoplasmas and viruses. Nature, 253, p.461-462.
- SHAW B.L. et BATTLE H.I., 1957- The gross and microscopic anatomy of the digestive tract of the oyster Crassostrea virginica(Gmelin). Canadian J.Zool., 35, (3), p.325-327.

- SILHOL M., 1963- Contribution à l'étude d'un mollusque lamelibranche : Tapes decussatus(L.). D.E.S. Université de Montpellier.
- SINDERMANN C.J. et ROSENFELD A., 1967- Principal diseases of commercially important marine Mollusca and Crustacea. U.S. Fish Wildl. Ser. Fish. Bull., 66, p. 335-385.
- SPRAGUE V., 1963- Revision of genus Haplosporidium and restoration of genus Minchinia (Haplosporidia, Haplosporidiidae). J. Protozool., 10, n°3, p. 263-266.
- SPRAGUE V., 1965- Observations on Chytridiopsis mytilovum(Field), formerly Haplosporidium mytilovum(Field), (Microsporida). J. Protozool., 12, n°3, p. 385-389.
- SPRAGUE V., 1970- Some protozoan parasites and hyperparasites in marine Bivalve Molluscs. In : A symposium on diseases of fishes and shellfishes, Spec. Publ. 5, Am. Fish. Soc., Washington D.C..
- STANIER R.Y., DOUDOROFF M. et ADELBERG E.A., 1966- Microbiologie générale. Précis de Sciences biologiques, Masson et Cie Edit., Paris-(Traduction de "The Microbial World", 2^e édit., 1963).
- TAKEUCHI T., TAKEMOTO Y. et MATSUBARA T., 1960- Hematological study of bacteria-infected oysters. Rep. Hiroshima Prefect. Fish. Exp. Sta., 22, p. 1-7.
- TIGE G., COMPS M. et GRIZEL H., 1977- Présence d'une coccidie parasite du rein chez Ostrea edulis L.. Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 41, (3), p. 223-225
- TIGE G., GRIZEL H. et COMPS M., 1980- Données sur le nouveau parasite de l'huitre plate-Situation épidémiologique. Cons. Int. Expl. Mer; Les maladies des poissons, crustacés et coquillages d'importance commerciale des eaux maritimes. Colloque n°39, Copenhague 1980.
- THOMPSON R.J. et BAYNE B.L., 1972- Active metabolism associated with feeding in the mussel Mytilus edulis L.. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 8, p. 191-212.
- VILELA H., 1950- Vida bentonica de Tapes decussata L.. Trav. Stn. Biol. Marit. Lisb., 53, 120 p.
- VILELA H., 1951- Sporozoaires parasites de la palourde, Tapes decussatus(L.). Revista da Fac. de Ciências de Lisboa, 2^e Série, C, 1, (2), p. 379-386.

- WALNE P.R., 1976- Experiments on the culture in the sea of the butterflyfish
Venerupis decussata L..Aquaculture,8,p.371-381.
- WOLF P.H., 1972- Occurrence of a haplosporidan in Sidney Rock oysters
(Crassostrea commercialis) from Moreton Bay, Queensland, Australia.
J.Invertebr.Pathol.,19,p.416-417.
- WOOD J.L. et ANDREWS J.D., 1961- Haplosporidium costale(Sporozoa) associated
with a disease of Virginia oysters.Science,136,p.710-711.

PLANCHE 1

Fig. 1 : Position naturelle d'enfouissement de *R. decussatus*. Les flèches indiquent les courants d'eau inhalant et exhalant.

Fig. 2 : Anatomie des valves.

b.m. : bord du manteau
b.p.a. : bord palléal antérieur
b.p.p. : bord palléal postérieur
b.p.v. : bord palléal ventral
lig. : ligament
lun. : lunule
p. : pied
s.b. : sillon byssogène
s.e. : sillon exhalant
s.i. : sillon inhalant
s.c.a. : sillons de croissance annuelles
v.d. : valve droite
v.g. : valve gauche
um : umbo

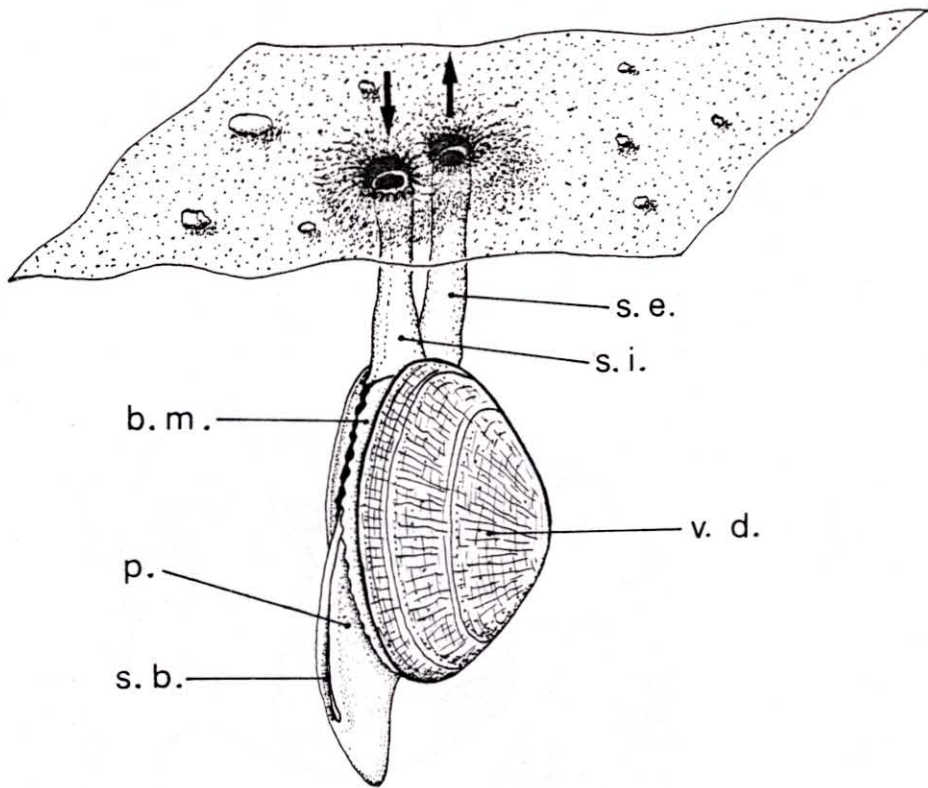


Fig. 1

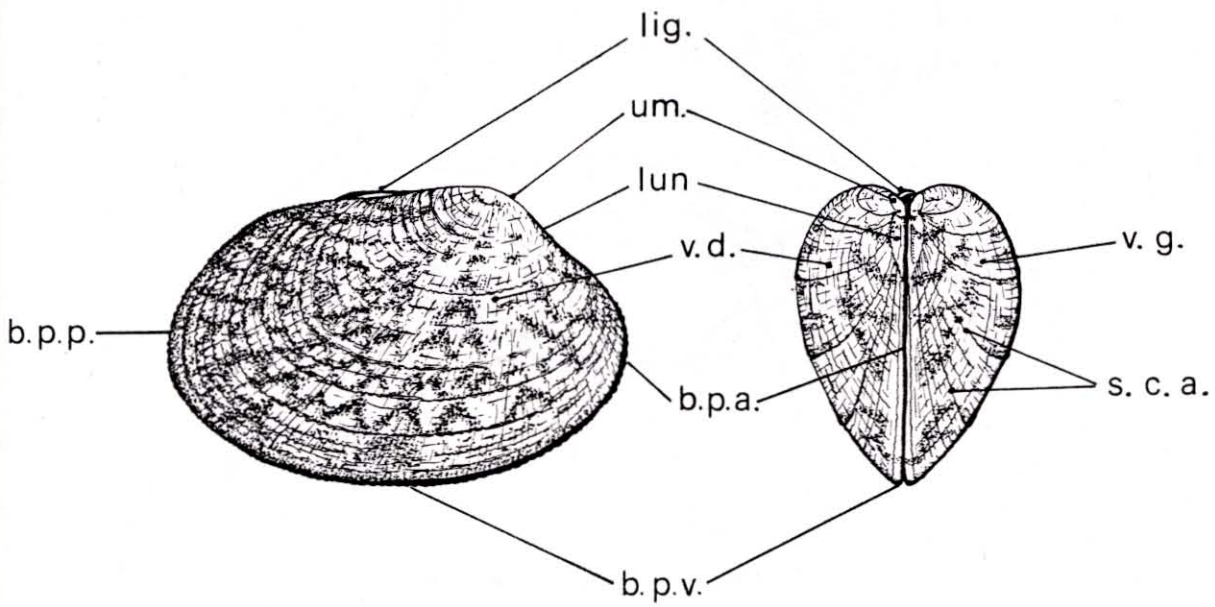


Fig. 2

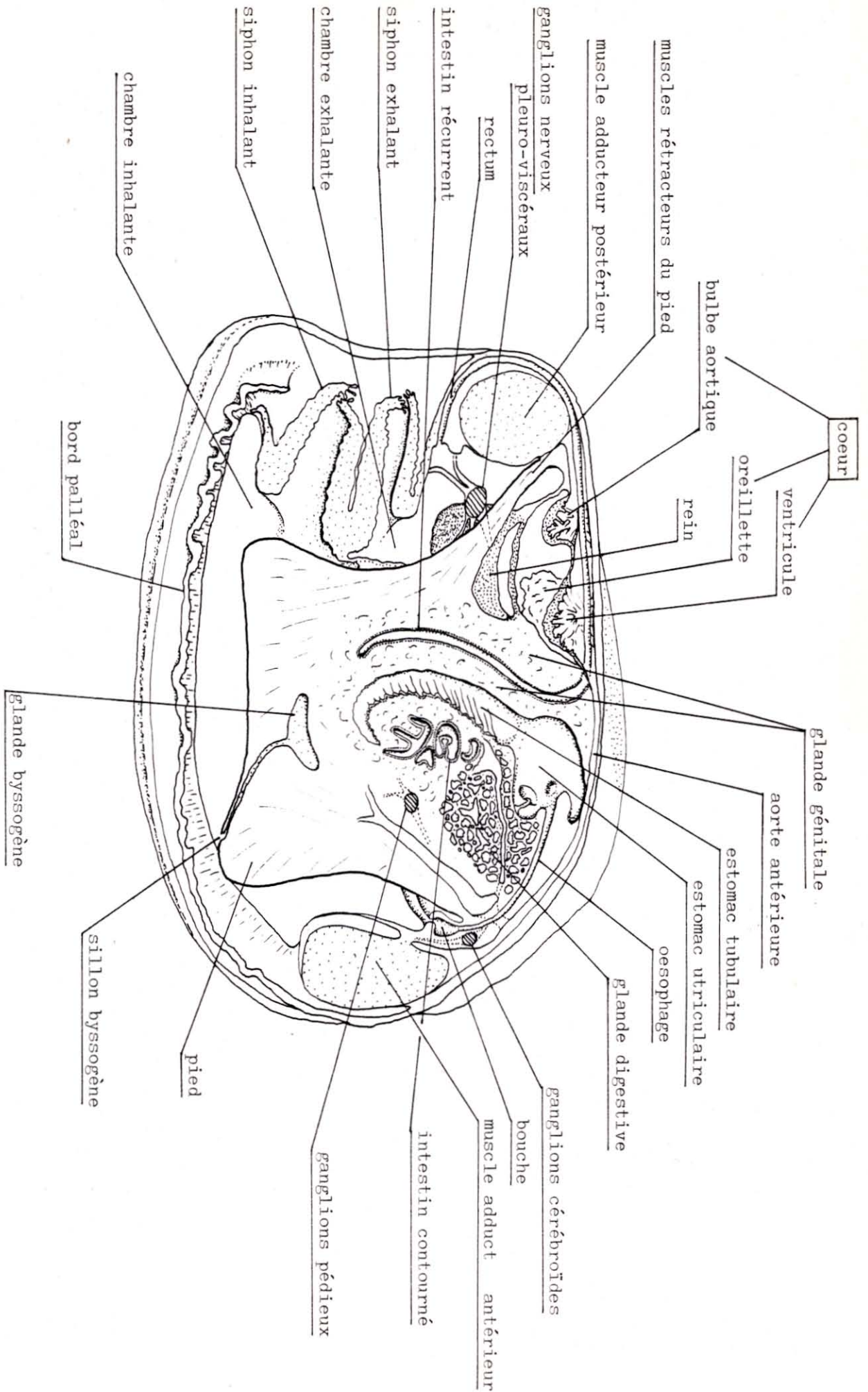


PLANCHE 3

Fig. 1 : Schéma des courants d'eau ciliaires dans la chambre inhalante.

b. : bouche
l.b.e. : lame branchiale externe
l.b.i. : lame branchiale interne
pa. : palpe labial
pi. : pied
s.e. : siphon exhalant
s.i. : siphon inhalant

Fig. 2 : Coupe transversale schématique du corps montrant l'insertion d'une branchie.

a.b. : axe branchial
c. : corps
f.d. : feuillet direct
f.r. : feuillet réfléchi

Fig. 3 : Coupe schématique de la glande digestive.

1 - Cellules du diverticule digestif au repos
2 - Phase d'absorption
3 - Phase de désintégration
5 - Phase de reconstitution

c.p. : conduit principal
c.se. : conduit secondaire
d.d. : diverticule digestif
c.d. : cellule digestive
c.s. : cellule sécrétrice

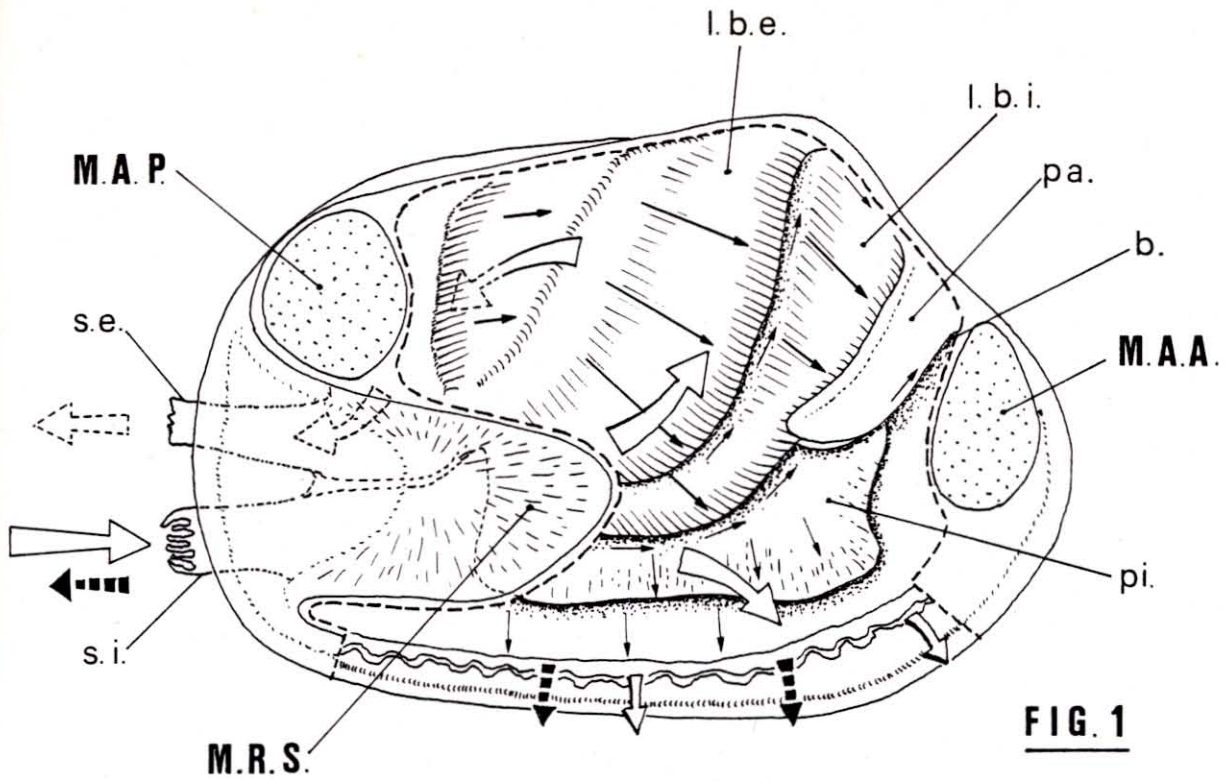


FIG. 1

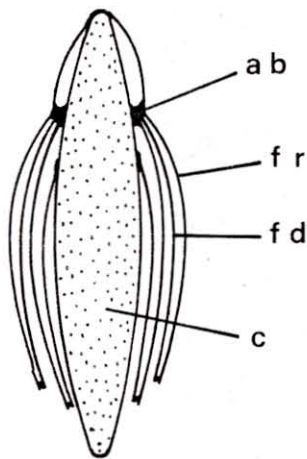


FIG. 2

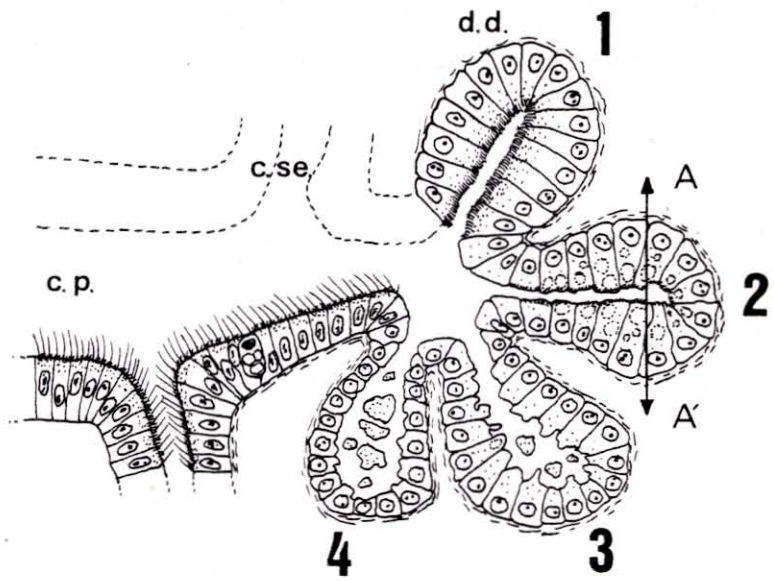


FIG. 3

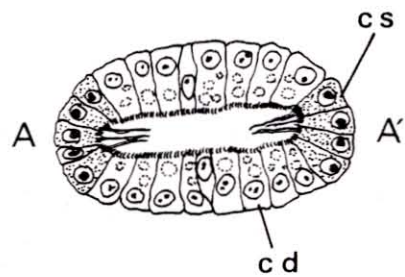


PLANCHE 4

Fig. 1 : Schéma d'organisation du tube digestif et du système nerveux.

a	: anus
c.c.v.	: connectifs cérébro-viscéraux
c.p.	: cavité péricardique
es.t.	: estomac tubulaire
es.u.	: estomac utriculaire
g.c.p.	: ganglions cérébro-pleuraux
g.p.	: ganglions pédieux
g.v.	: ganglions viscéraux
i.c.	: intestin contourné
i.r.	: intestin récurrent
n.b.	: nerfs branchiaux
n.c.a.	: nerf cérébral antérieur
n.p.	: nerf palléal
n.s.	: nerf siphonal
oe	: oesophage
r	: rectum
t.c.c.p.	: tronc des connectifs cérébro-pédieux

Fig. 2 : Coupe schématique d'un feuillet branchial montrant deux plis.

f.a.	: filament apical
f.m(i)	: fibres musculaires (inter-filamentaires)
f.p.	: filament principal
h	: hémocytes
j.i.	: jonctions inter-filamentaires
j.i.fol	: jonctions inter-foliaires
v.a.	: vaisseau afférent
v.e.	: vaisseau efferent
j.i.a.	: jonction inter-filamentaire apicale
j.i.b.	: jonction inter-filamentaire basale
j.i.p.	: jonction inter-filamentaire principale

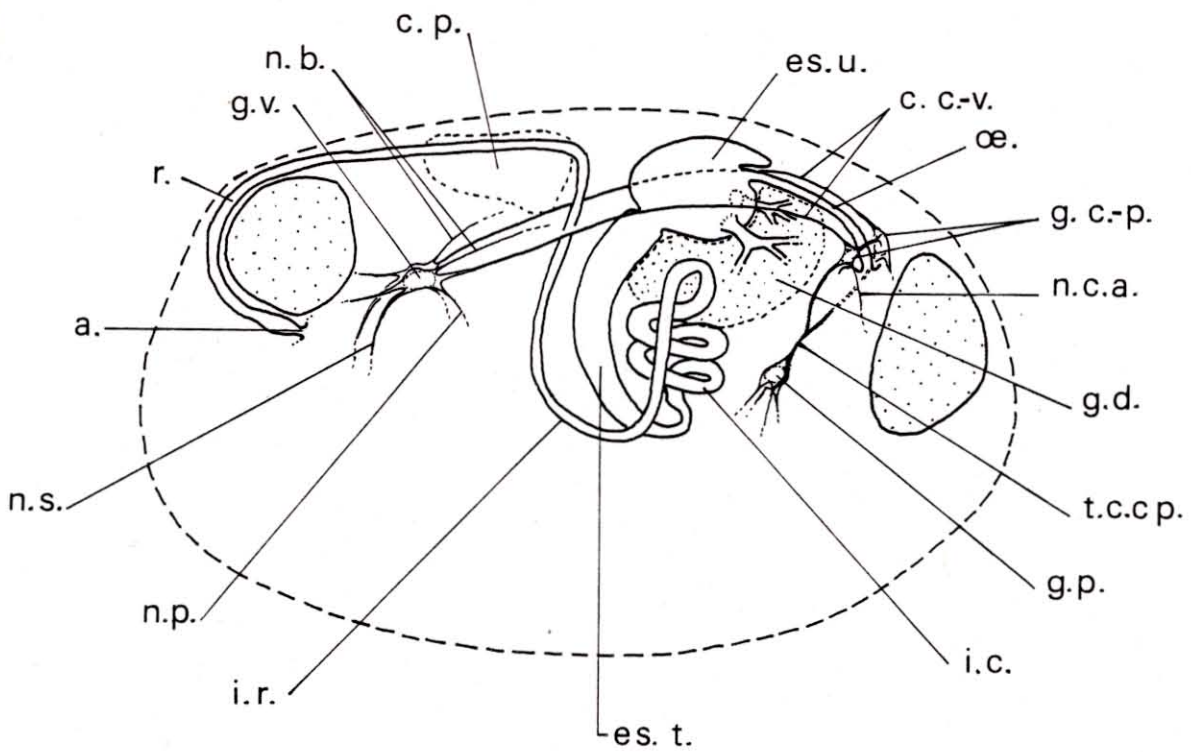


Fig. 1

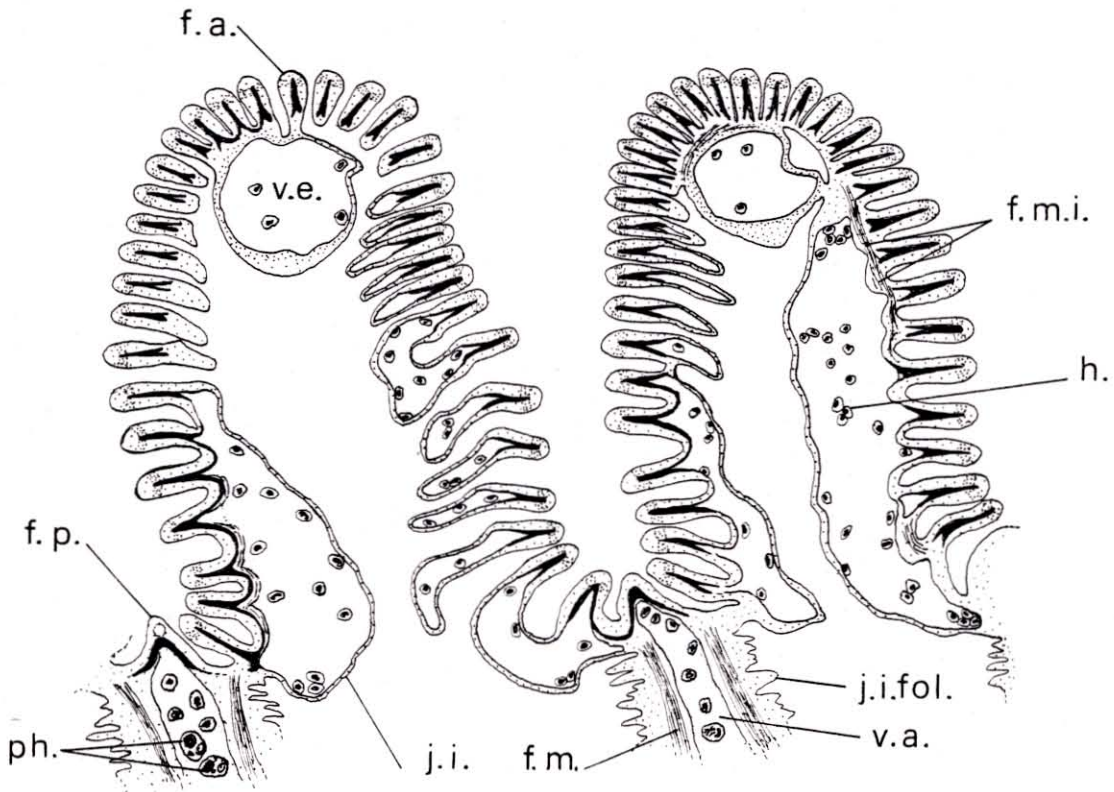


Fig. 2

PLANCHE 5

Fig. 1 : Coupe schématique transversale au niveau du coeur.

Fig. 2 : Coupe schématique de la valve auriculo-ventriculaire.

Fig. 3 : Diagramme montrant l'organisation du coeur.

Fig. 4 : Coupe schématique longitudinale du coeur.

A.A. : Aorte antérieure
A.P. : Aorte postérieure
a.b. : arc branchial
b. : bulbe
c.p. : cavité péricardique
F.M. : Fibres musculaires
He : hémocytes
l.e. : lame branchiale externe
l.i. : lame branchiale interne
Or. : Oreillette
r. : rectum
v.a. : veine afférente
v.a.a. : valve aortique antérieure
v.a.p. : valve aortique postérieure
ve : ventricule
v.ef. : veine efférente
v. : masse viscérale

Fig. 2

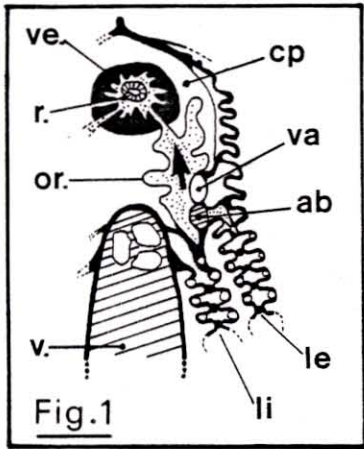
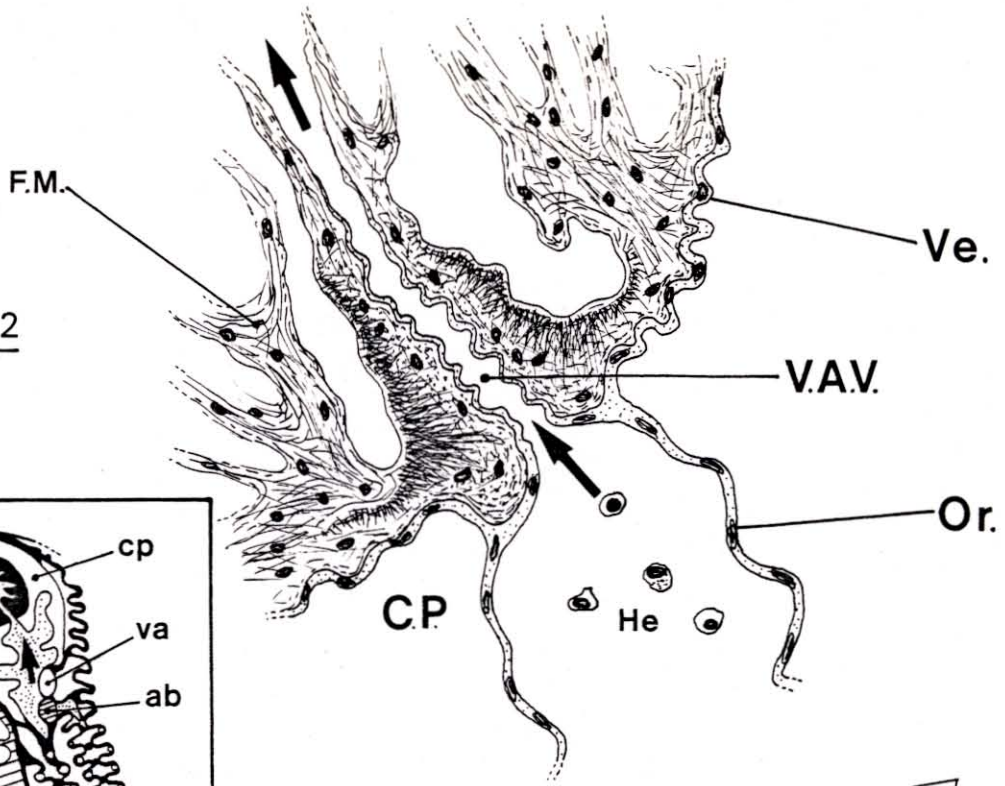


Fig. 3

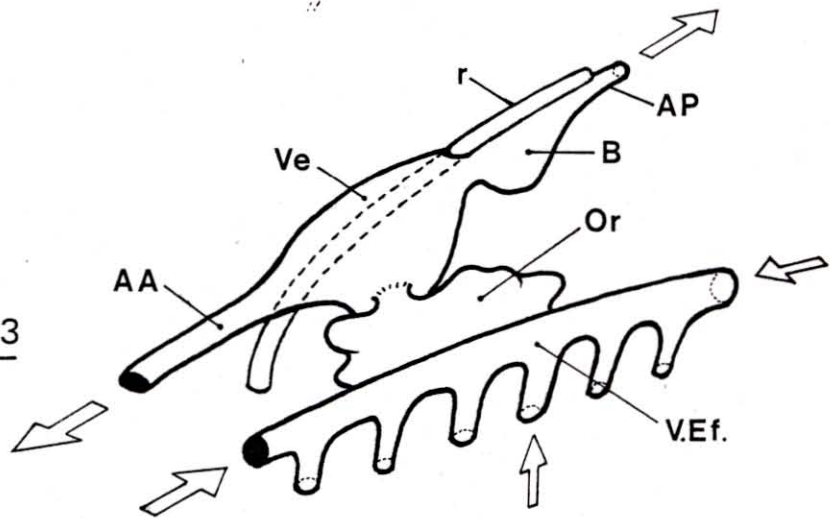


Fig. 4

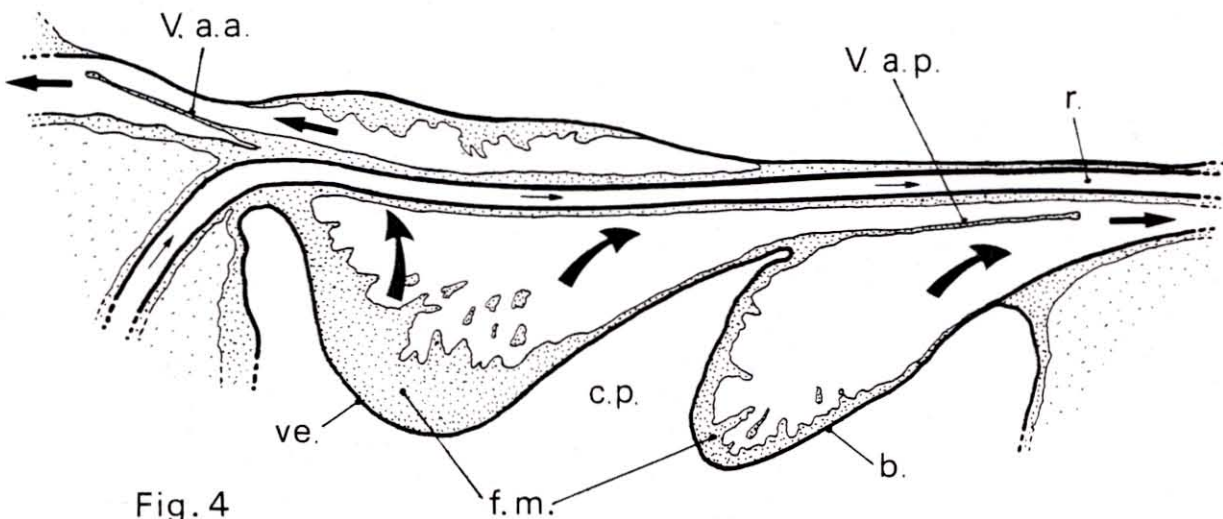


PLANCHE 6

Fig. 1 : Diagramme dans l'espace de l'organisation des filaments branchiaux
(voir légendes de la planche 4).

Fig. 2 : Diagramme de l'organisation du filament branchial.

Fig. 3 : Schéma d'interprétation dans l'espace du cirre eu-latéro-frontal.

Fig. 4 : Schéma d'interprétation d'après microscopie photonique à immersion
des cirres eu-latéro-frontaux (cotes en microns).

e.l.f. : cils eu-latéro-frontaux

l : cils latéraux

f : cils frontaux

c.m. : cellules muqueuses

1 : cellule pro-latérale

2 : cellule eu-latéro-frontale

3,4,5,6 : cellules latérales

7 : cellules frontales

c.s. : cellule de soutien

l.s. : lacune sanguine

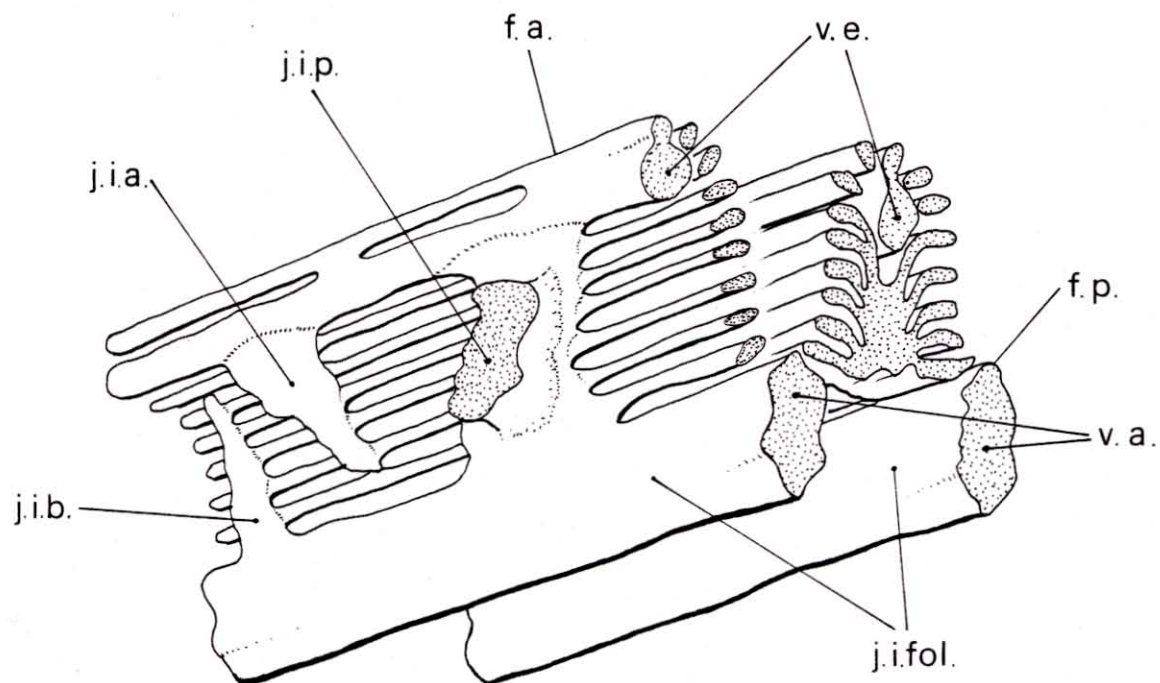


FIG 1

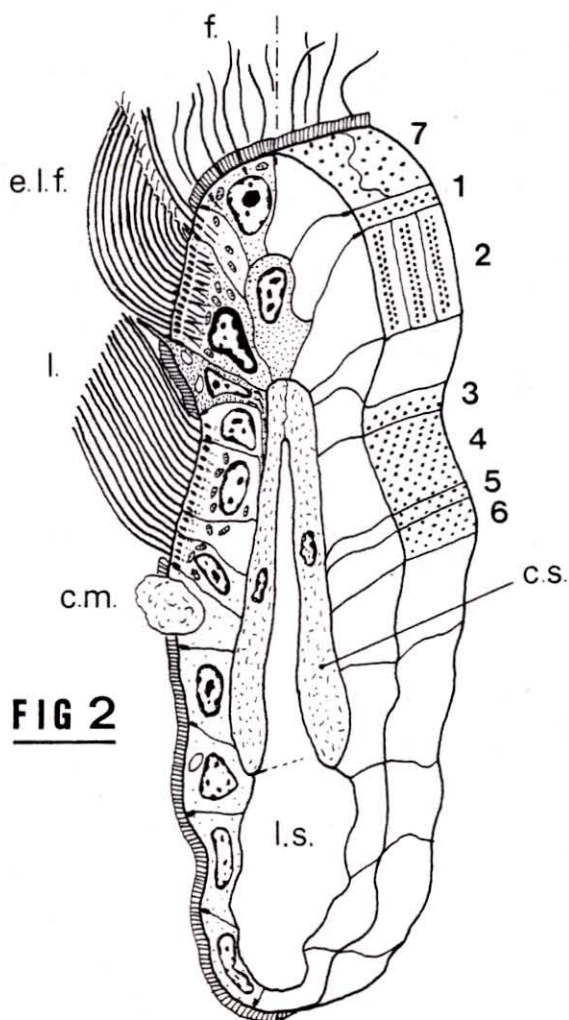


FIG 2

FIG 3

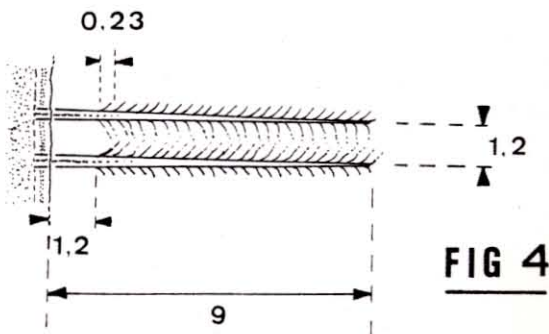
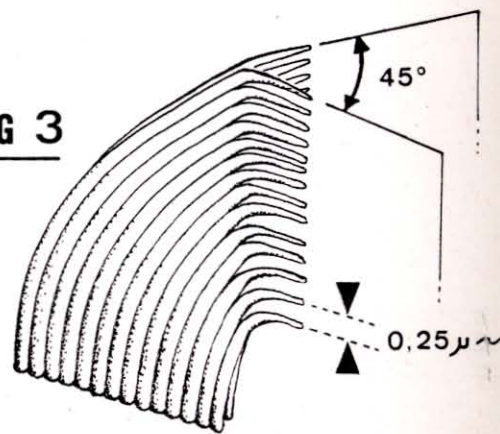


FIG 4

PLANCHE 7

Fig. 1 : Schéma descriptif de Himasthla 1 d'après frottis.

Fig. 2 : Organisation de Himasthla 2.

Fig. 3 : Détail de la partie céphalique de H.2.

c.e. : canaux excréteurs
c.g.c. : canal de la glande céphalique
ép. : épine
m.e. : membrane externe du kyste
m.i. : membrane interne du kyste
oe : oesophage
o.g.c. : orifice de la glande céphalique
p.e. : pore excréteur
ph. : pharynx
p.ph. : prépharynx
v.e. : vésicule excrétrice
ves. : vessie
v.o. : ventouse orale
v.p. : ventouse postérieure ou acetabulum

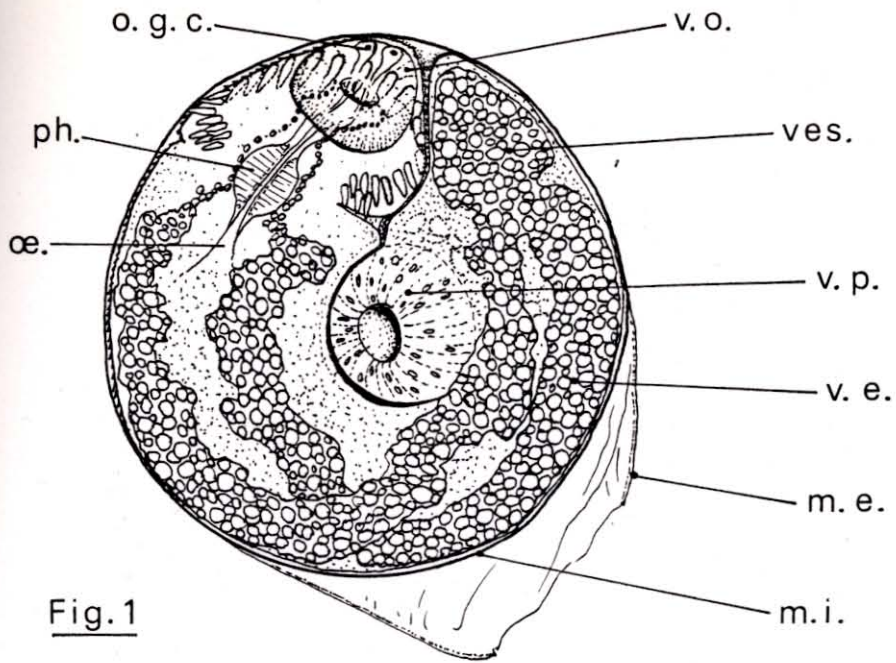


Fig. 1

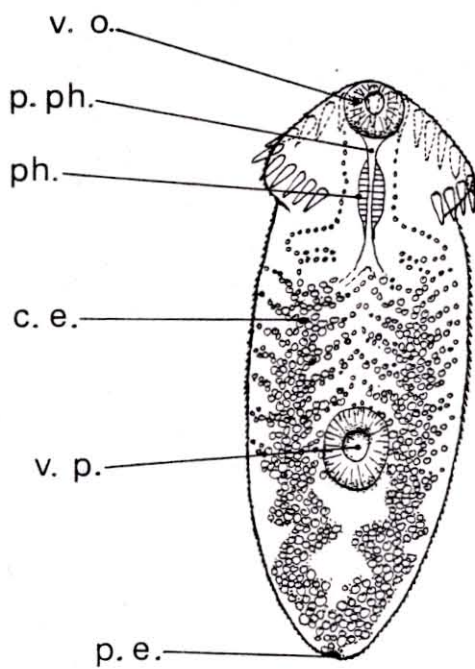


Fig. 2

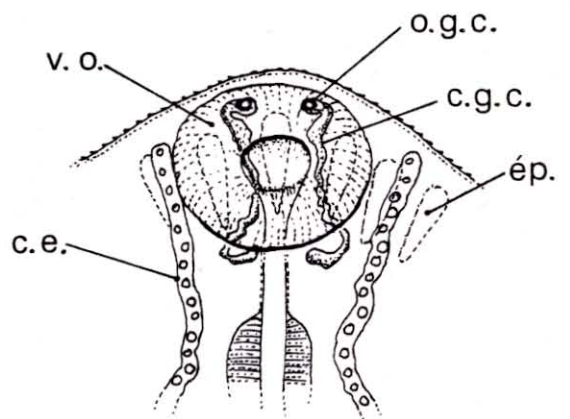


Fig. 3

100 μ

PLANCHE 8

Fig. 1 : Métacercaire de G. fossarum d'après un exemplaire trouvé dans l'espace extra-palléal sous articulaire.

Fig. 2 : Diagramme montrant les positions de G. fossarum les plus fréquemment rencontrées chez R. decussatus.

b.pal. : bord palléal
c.d. : caecum digestif
m.r.s. : muscle rétracteur des siphons
ov. : ovaire
p. : parasites
pal. : pallium
p.g. : pore génital
ph. : pharynx
p.p. : pars prostatica
t. : testicule
ut. : utérus
v.e. : vésicule excrétrice
v.o. : ventouse orale
v.p. : ventouse postérieure ou acetabulum

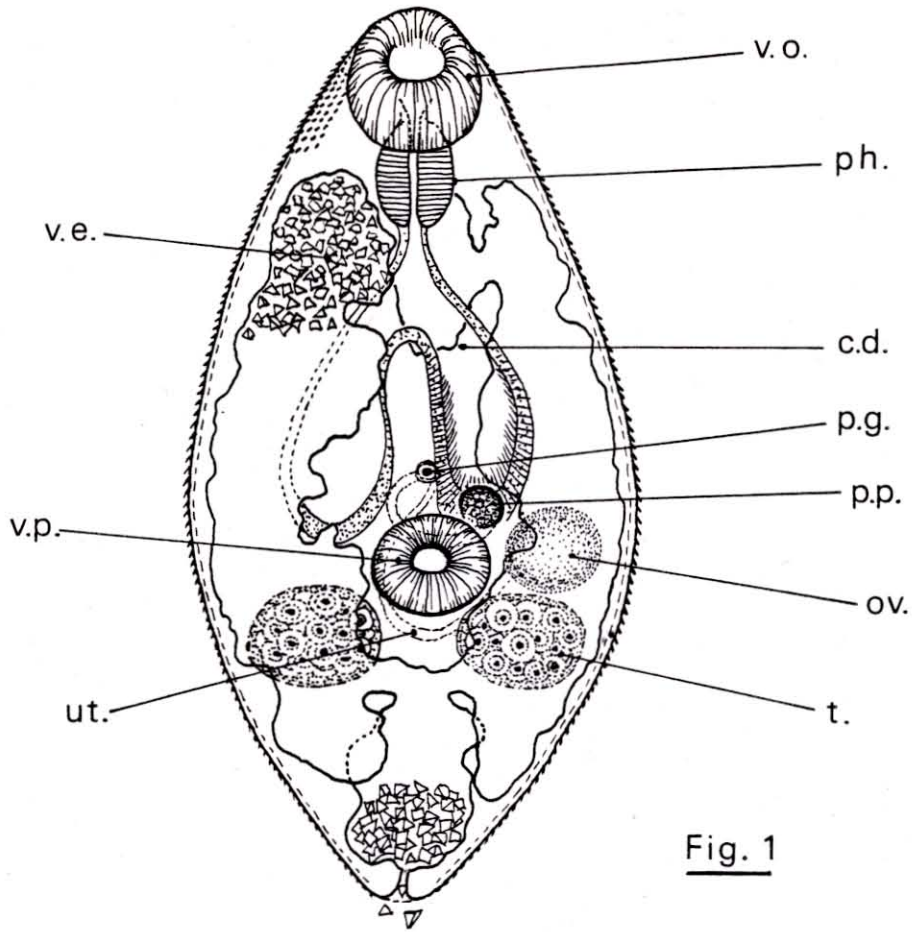


Fig. 1

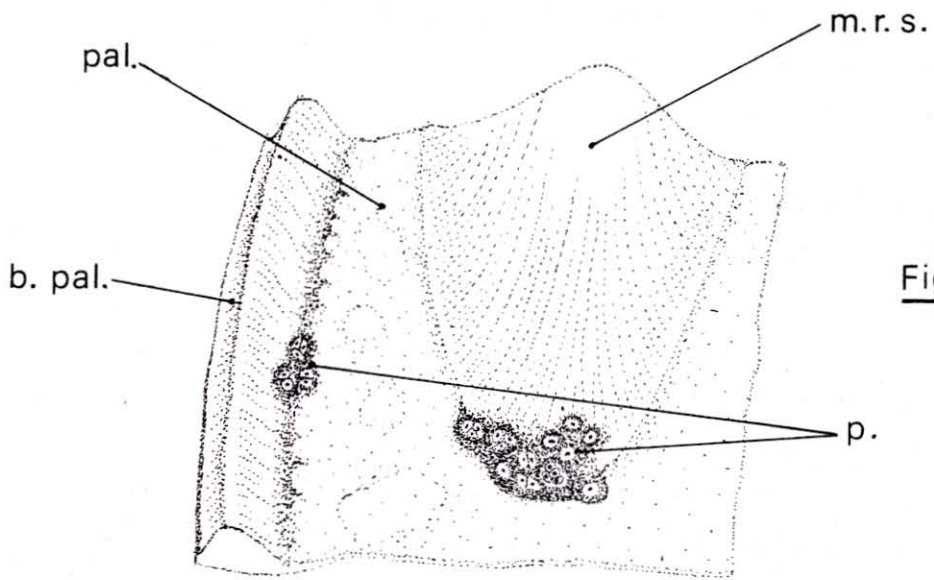


Fig. 2

PLANCHE 9

Fig. 1 : Schéma de Paravortex.

Fig. 2 : Les différents microbiotopes occupés par les métacercaires parasites de R. decussatus.

c.d. : cavité digestive
d.c. : débris cellulaires ingérés
e.u. : estomac utriculaire
oe. : oesophage
ov. : ovules
par. : parenchyme
p. : pied
ph. : pharynx
r. : rein
vit. : vitellogène

1 : Himasthla 1

2 : Himasthla 2

3 : G. fossarum

4 : Métacercaire non identifiée

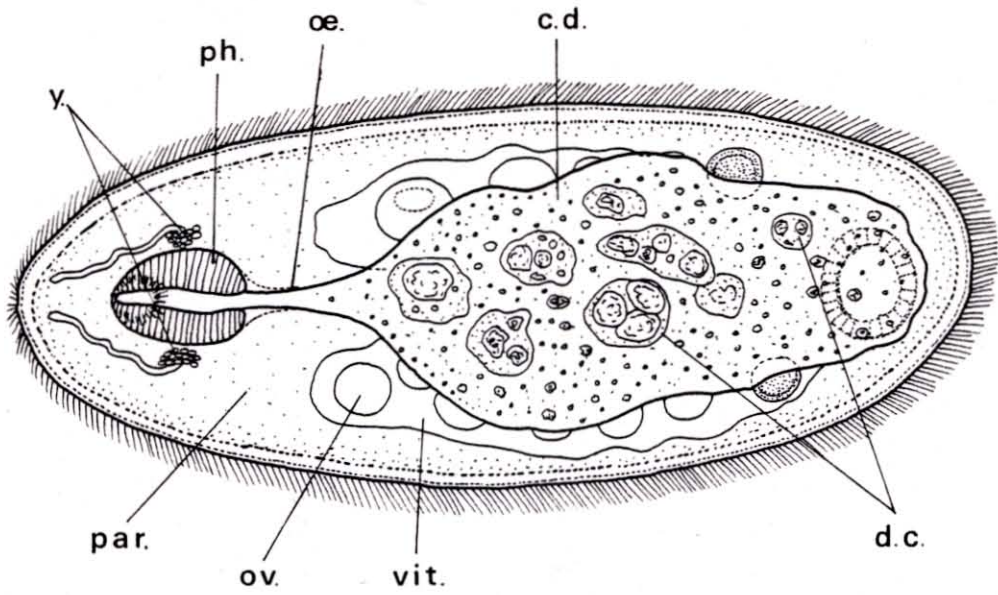
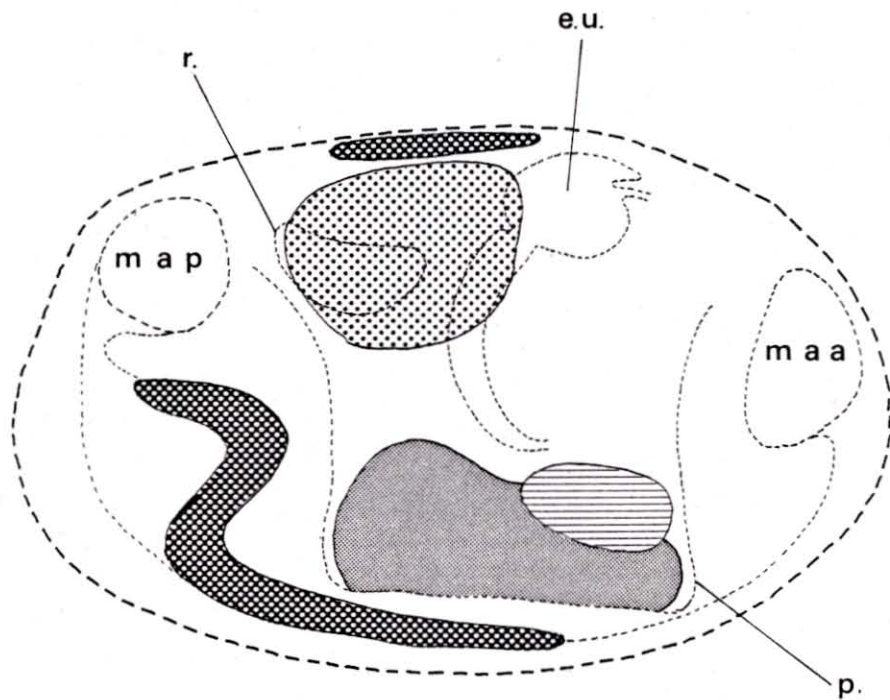


FIG. 1






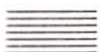
-  1
-  2
-  3
-  4

FIG. 2

PLANCHE 10

Fig. 1 : Coccidie parasite de l'épithélium intestinal (voir également planche 22).

Fig. 2 : Spores de Nematopsis parasite du tissu conjonctif branchial.

c.é. : cellule épithéliale intestinale
h. : hémocyte
n. : noyau
n.h. : noyau de la cellule hôte
n.u. : nucléole
r.d.i. : résidus de digestion intracellulaire
s. : spore
sp. : sporoplasme
v. : vacuole

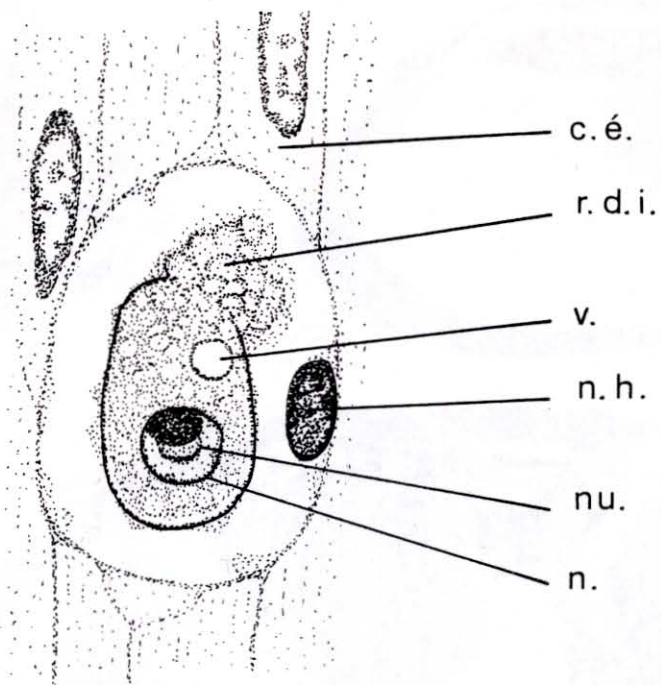


Fig. 1

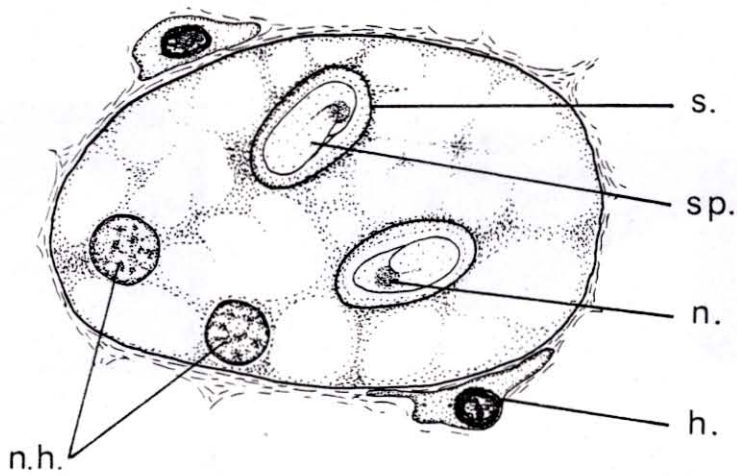


Fig. 2

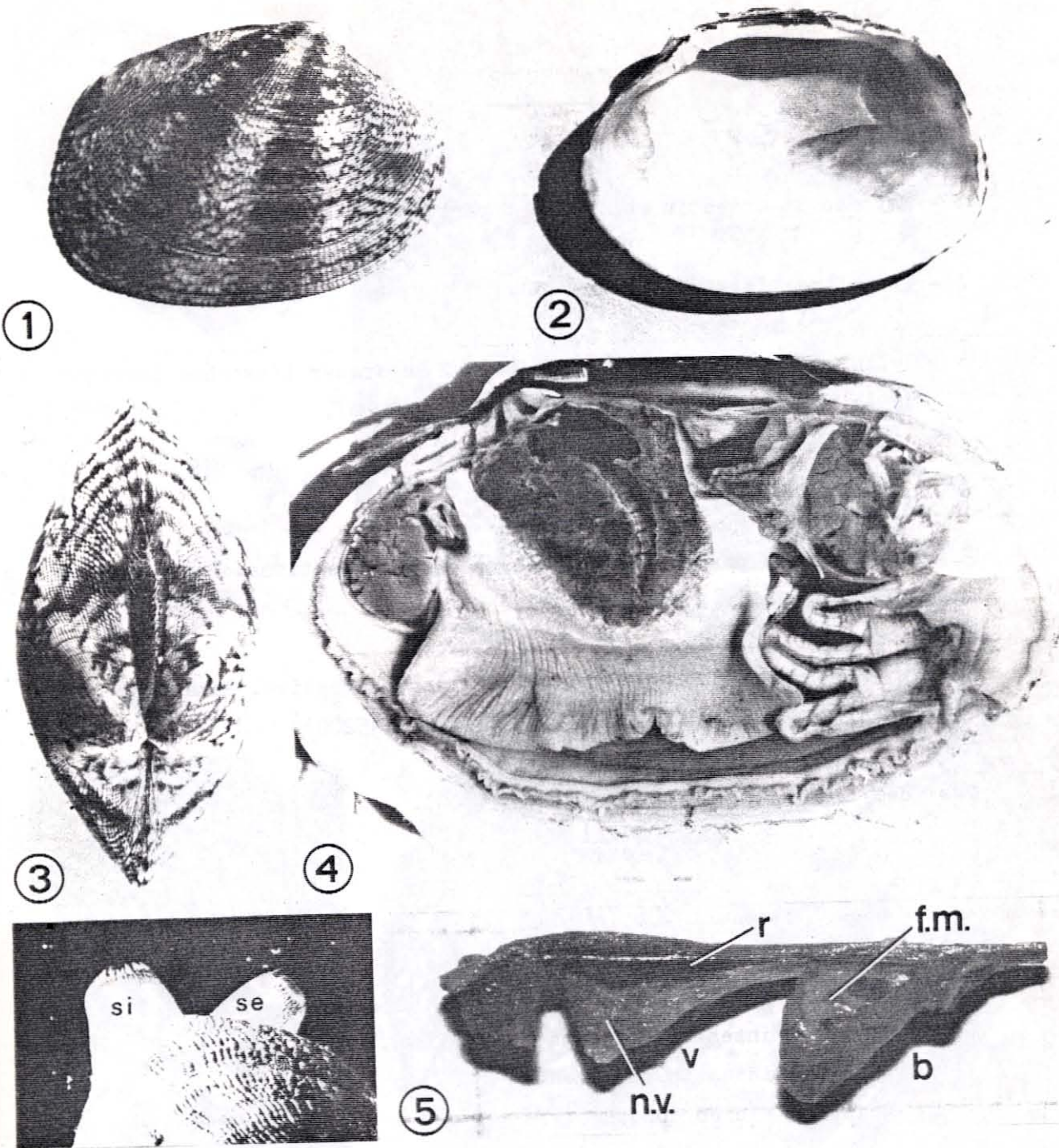


Fig. 1 : Valve droite de *R. decussatus* : face externe.

Fig. 2 : Valve droite : face interne.

Photo 3 : Détail de la face dorsale (charnière) (G x 2).

Photo 4 : Coupe longitudinale du corps (voir explications planche 2) (G x 3).

Photo 5 : Coupe longitudinale du coeur (voir aussi planche 5) (G x 6).

PHOTO 6 : Détail des siphons inhalants (s.i.) et exhalants (s.e.) (G x 2,5).

PLANCHE 12

- 1 - Estomac et intestin contourné : partie droite (G x 4,5).
- 2 - Idem : partie gauche (G x 4,5).
- 3 - Cellule digestive en phase de repos. Remarquer l'extrême imbrication de la partie apicale des cellules (G x 9200).
- 4 - Cellule sécrétrice (ou "basophile" - G x 11600).
- 5 - Détail de la partie apicale des cellules digestives. Remarquer les desmosomes (G x 21600).
- 6 - Cellule du tissu conjonctif de la glande digestive. Remarquer les vacuoles emplies de protéoglycanes (G x 15200).
- 7 - Idem : détail des vacuoles (G x 44800).

c. : coeur
e.t. : estomac tubulaire
e.u. : estomac utriculaire
i.c. : intestin contourné
i.r. : intestin récurrent
f.c. : fibres conjonctives
m. : mitochondries
mv : microvillosités
oe : oesophage
pg : proteoglycanes
REG : Réticulum endoplasmique granulaire
t.d. : tubules digestifs

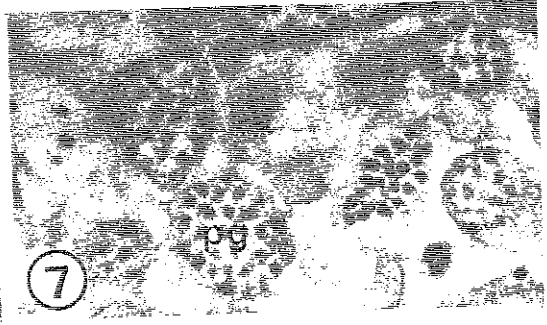
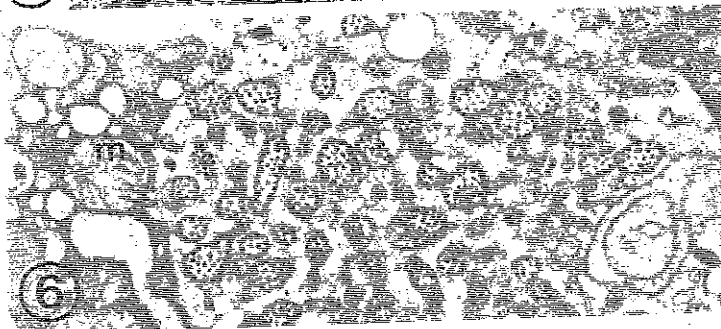
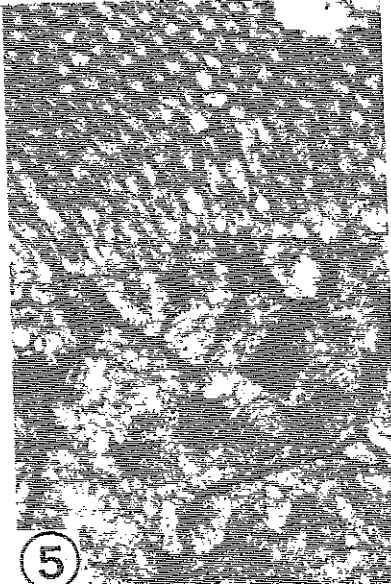
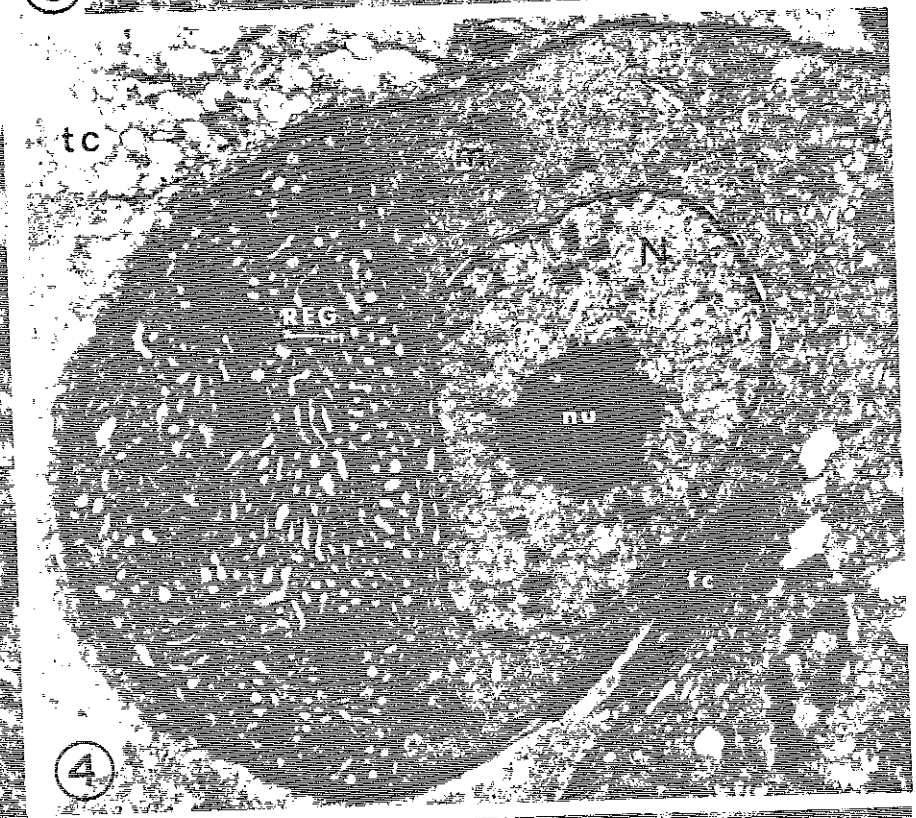
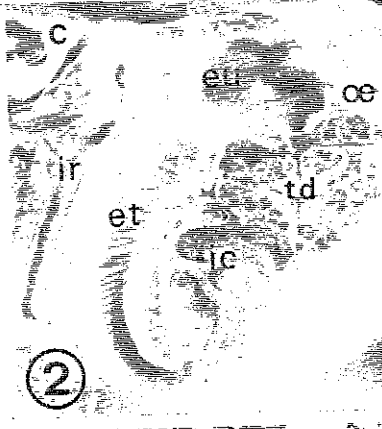
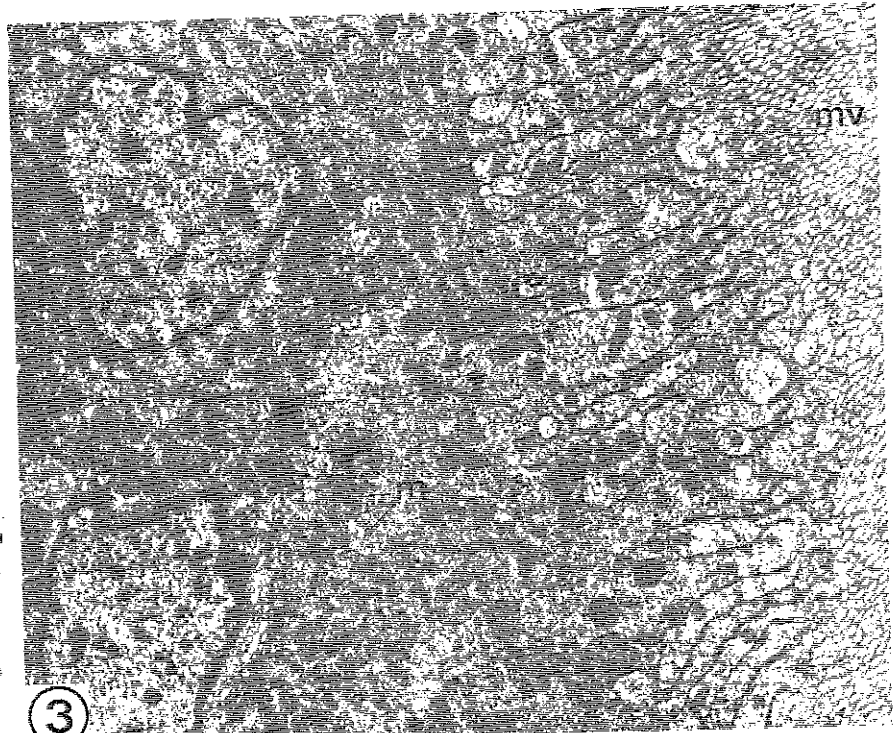


PLANCHE 13

- 1 - Coupe transversale dorso-ventrale montrant le corps (m.v.), les deux lames branchiales et le manteau (Hématoxyline) (G x 70).
- 2 - Cirres en-latéro-frontaux. Microscopie à immersion d'un frottis branchial (G x 975).
- 3 - Coupe d'une lame branchiale. AZAN. Remarquer les baguettes chitineuses colorées par le bleu d'aniline (G x 220).
- 4 - Coupe semi-fine de deux filaments branchiaux (G x 900).
- 5 - Coupe en microscopie électronique de la partie apicale d'un filament branchial (G x 1900).
- 6 - Photo d'une branchie séchée montrant l'aspect plissé des feuilletts branchiaux. Les flèches indiquent les courants ciliaires (voir aussi planche 3).
- 7 - Cellules muqueuses du filament branchial. Bleu Alcian pH. 1 (G x 480).

b.c. : baguettes chitineuses
D. : vers la partie dorsale de la palourde
E.L.F. : cils eu-latéro-frontaux
f. : cils frontaux
f.b. : filament branchial
g. : gouttière marginale de la lame branchiale
l. : cils latéraux
l.b.e. : lame branchiale externe
l.b.i. : lame branchiale interne
l.s. : lacune sanguine
m. : manteau
m.v. : masse viscérale
V. : vers la partie ventrale de la palourde
v.a. : vaisseau afférent
v.e. : vaisseau efferent

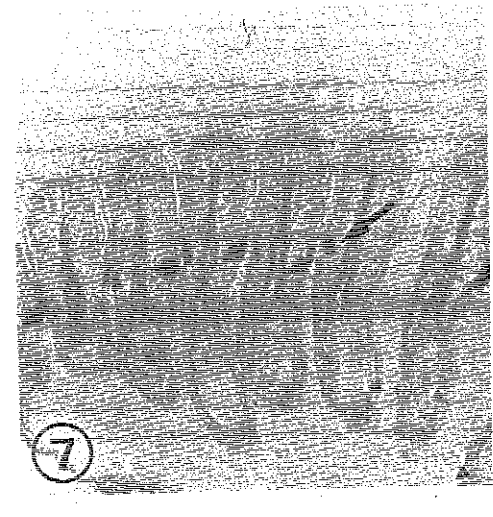
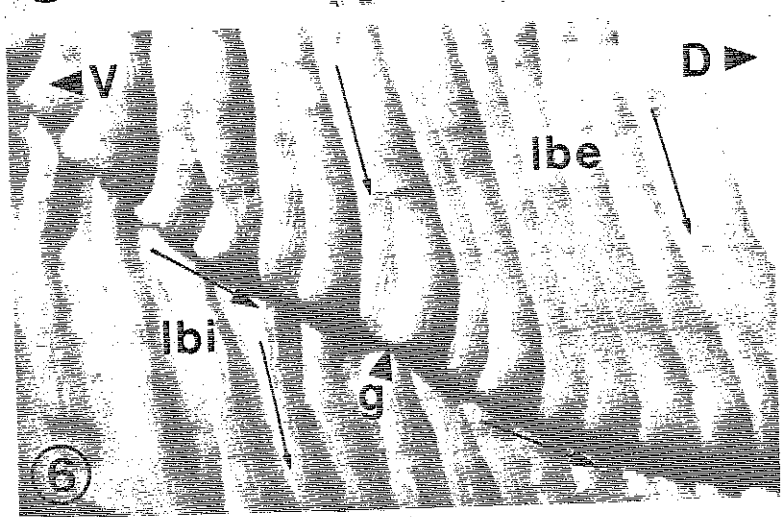
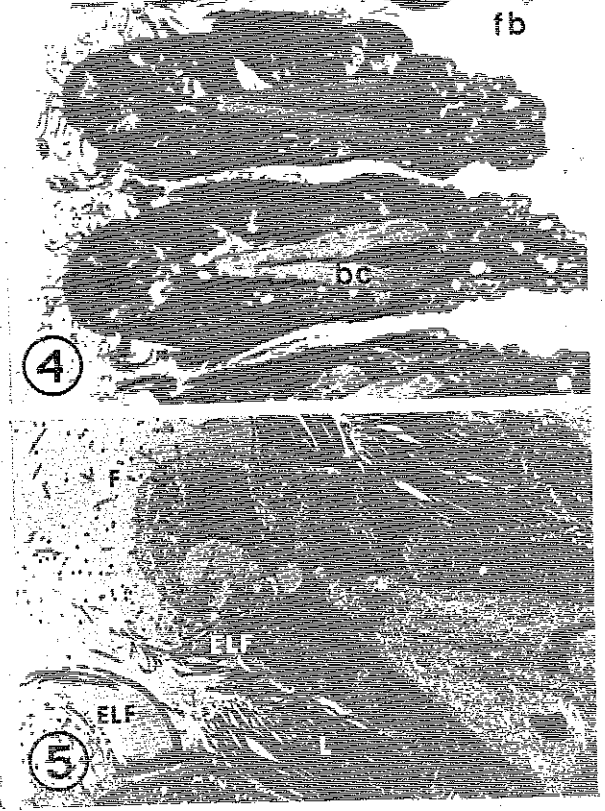
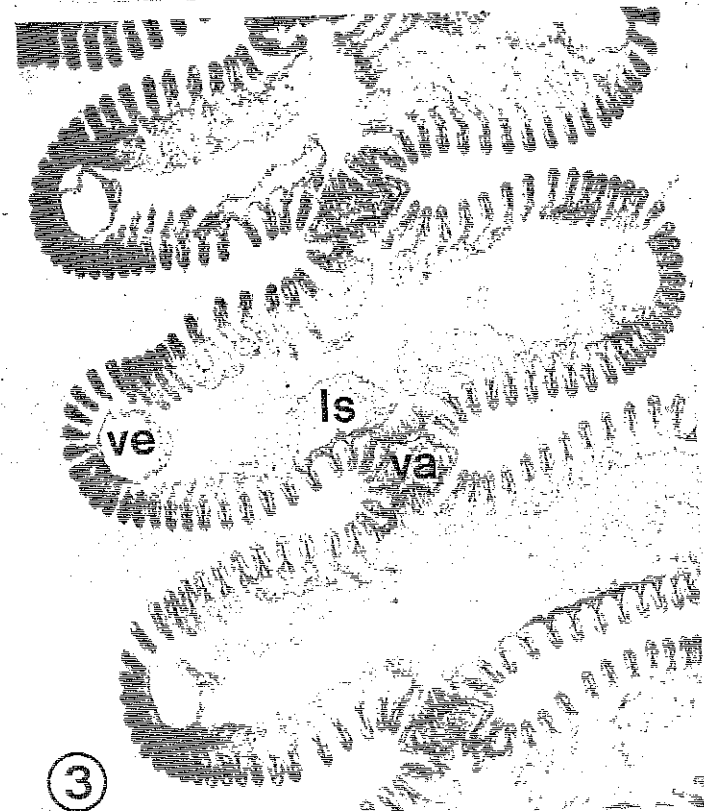
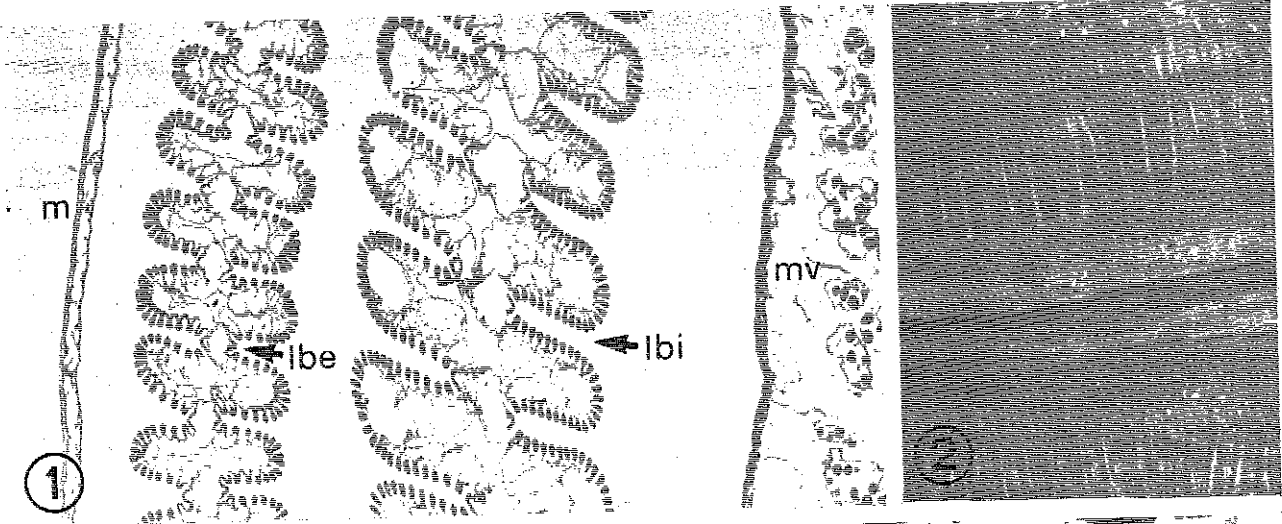


PLANCHE 14

- 1 - Cellules latérales et eu-latéro-frontales du filament branchial. Les têtes de flèches indiquent les limites cellulaires (G x 5000).
- 2 et 3 - Détails des cils eu-latéro-frontaux. Les petites flèches indiquent les écarts de bifurcation entre chaque cil (G x 5800).
- 4 - Eléments de soutien (flèches) au point de courbure de chaque cil eu-latéro-frontal (G x 10400).
- 5 et 6 - Expansion cytoplasmique de la cellule intermédiaire (G x 10400).
- 7 - Cellules et cils frontaux.
Remarquer les microvillosités et la cellule riche en ribosomes à noyau typique des cellules sécrétrices (G x 5800).

c.s. : cellule de soutien (= baguette chitineuse)

elf : cils eu-latéro-frontaux

f. : cils frontaux

m.v. : microvillosités

n. : noyau

pl. : cils prolatéraux

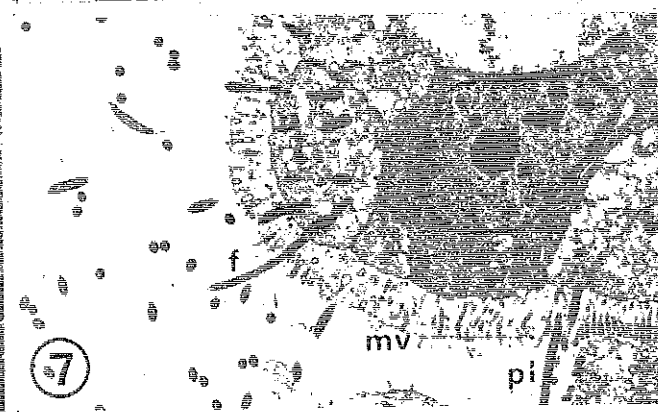
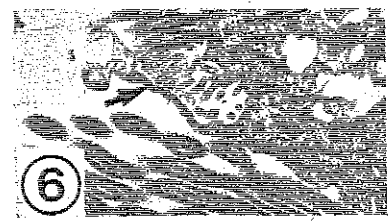
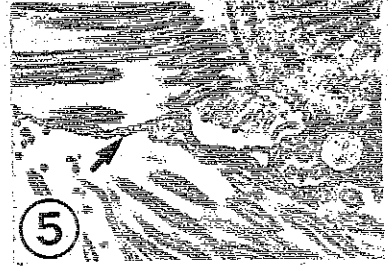


PLANCHE 15

- 1 - Détail de la partie basale des filaments branchiaux. Remarquer l'aspect plissé de l'épithélium microvillaire et le phagocyte en voie de rejet. Les flèches indiquent les limites de l'épithélium microvillaire autour du phagocyte (G x 7200).
- 2 - Détail des microvillosités et de la zonula adherens (G x 44800).
- 3 - Vacuole digestive d'un phagocyte (G x 26000).
- 4 - Idem (fort grossissement) : noter les empilements membranaires (G x 77600).
- 5 - Coupe semi-fine d'une concentration branchiale de phagocytes autour du foyer d'injection (c.).
- 6 et 7 - Phagocyte : remarquer l'importance des vacuoles digestives (G x 6500).

c.e. : cellule épithéliale
g : glycocalyx
m.v. : microvillosités
n : noyau
p. : vacuole de pinocytose
ph. : phagocyte
m : empilements membranaires

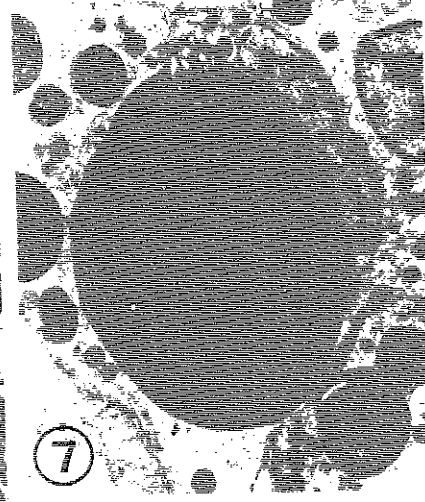
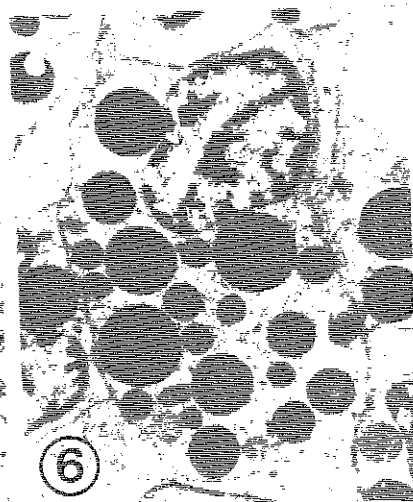
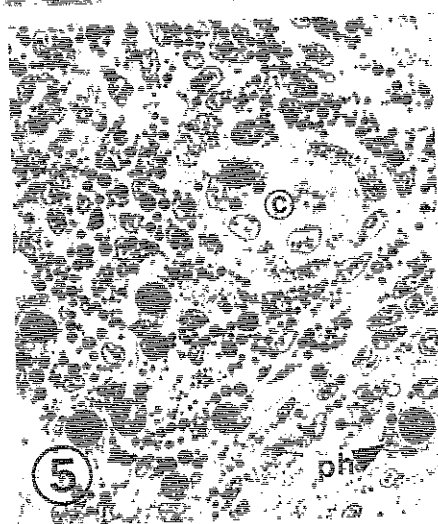
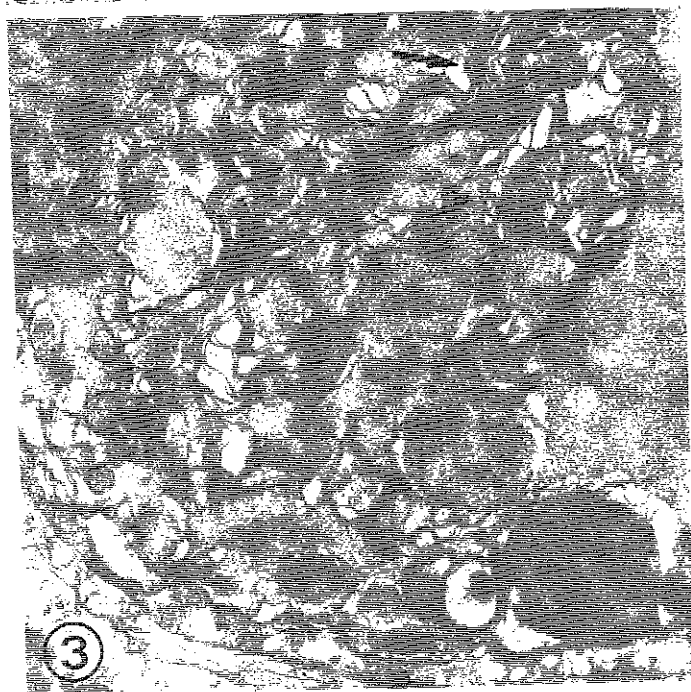
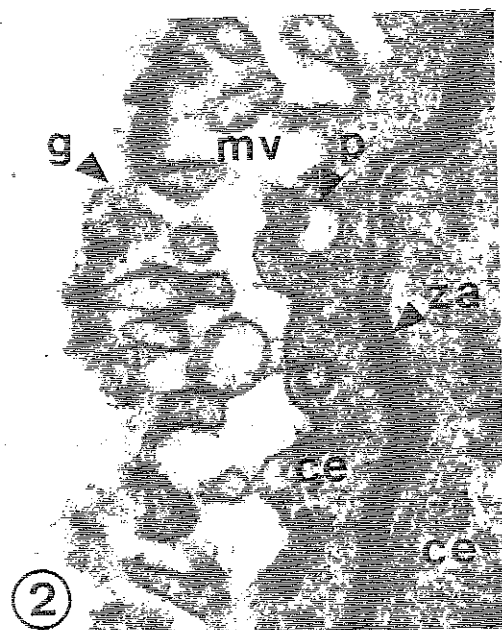
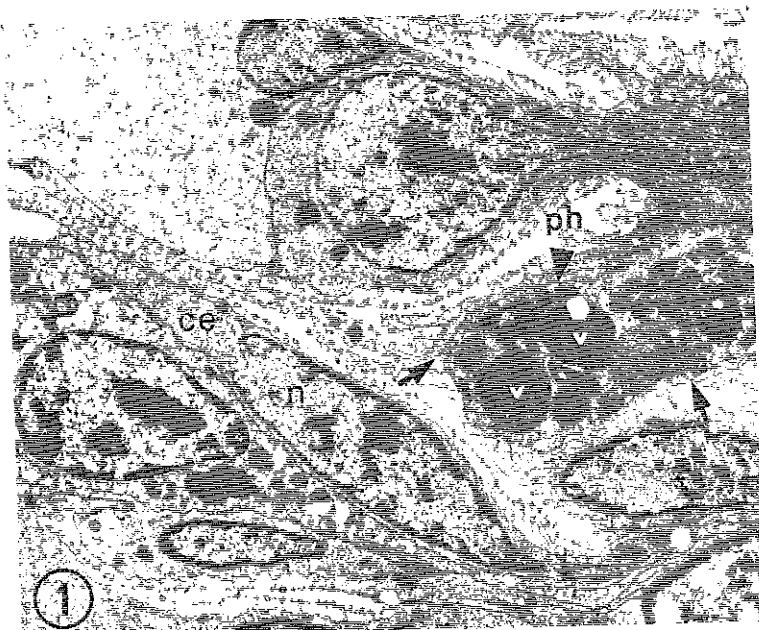


PLANCHE 16

1 - Cercaires de B. bacciger.

2 - Sporocyste de B. bacciger.

3 - Sporocystes s'échappant de la branchie déchirée.

c : cercaires

c.g. : cellules germinales

l.b. : lame branchiale déchirée

sp. : sporocyste

v.a. : ventouse antérieure

v.p. : ventouse postérieure

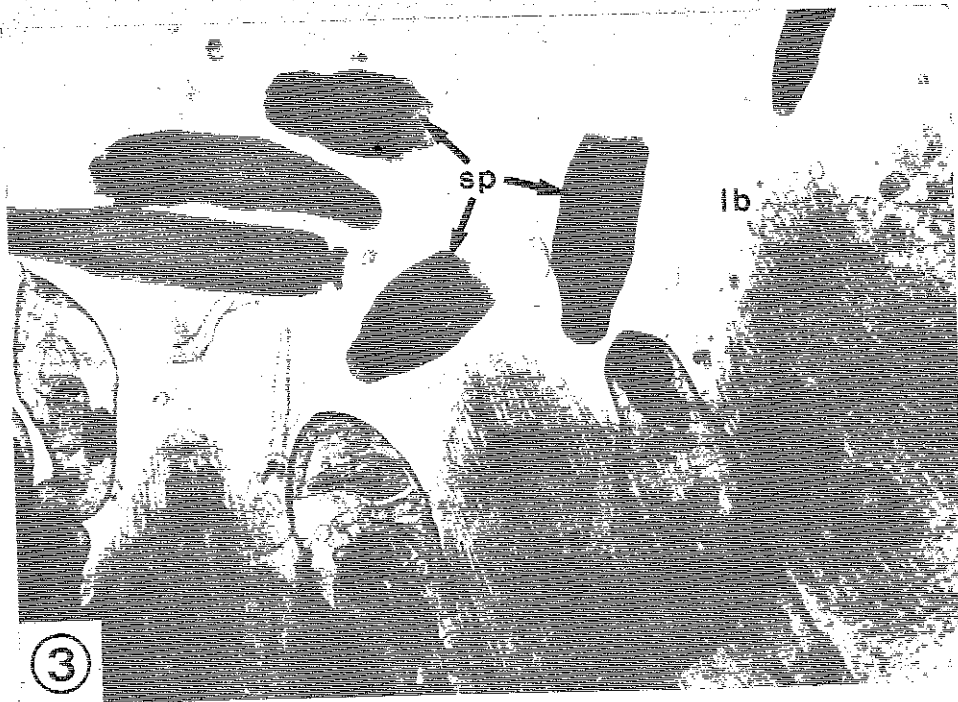
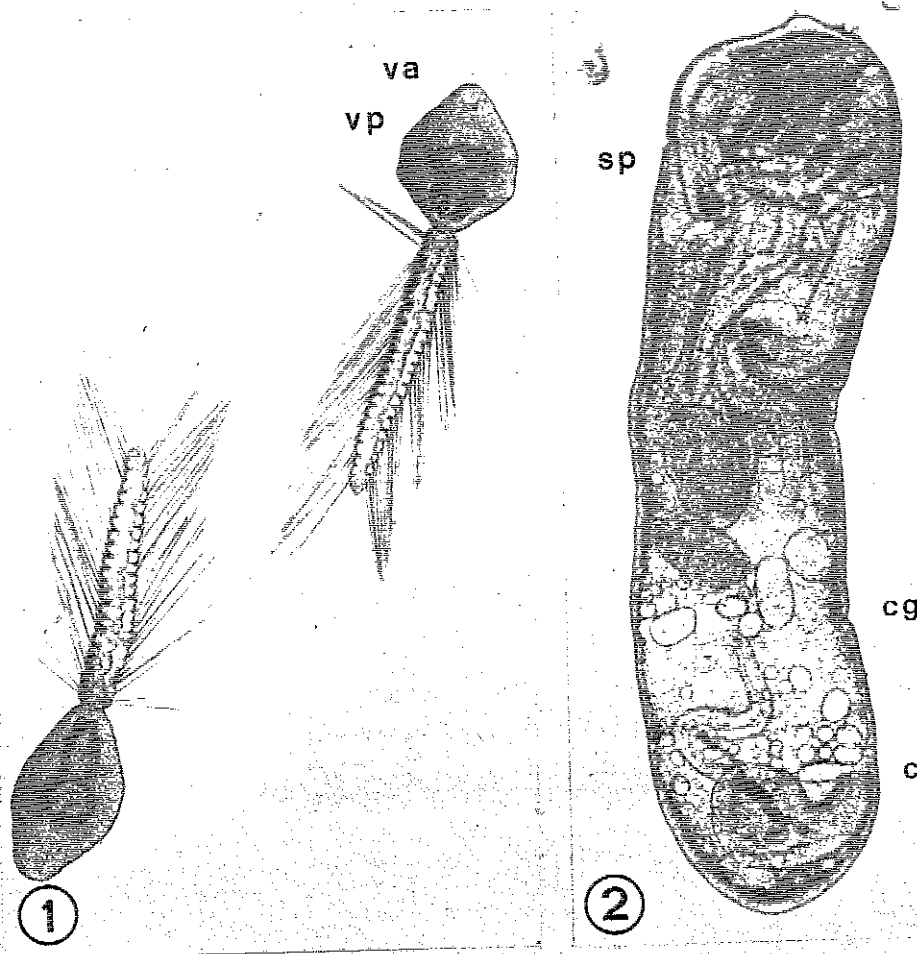


PLANCHE 17

1 - Coupe semi-fine d'un feuillet branchial montrant les vaisseaux afférents envahis par les sporocystes (G x 90) B. bacciger.

2 - Coupe semi-fine montrant le détail de la queue d'une cercaire.
Remarquer les soies reliées par une fine membrane (G x 890).

3 - Coupe histologique du corps montrant l'envahissement de la glande génitale. (hemalun - Orangé G - vert lumière) (G x 45).

c. : cercaires
es. : estomac
g. : gonade
f.b. : filaments branchiaux
f.p. : filament principal
i.r. : intestin récurrent
sp. : sporocyste

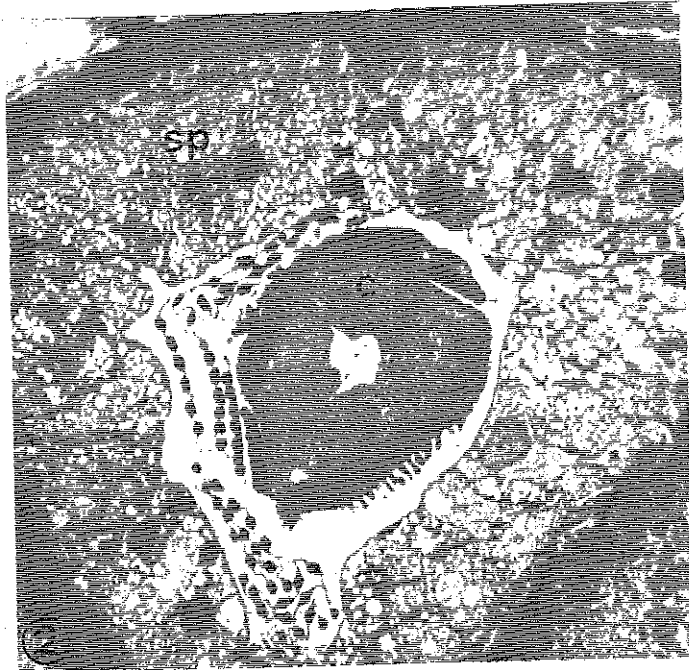
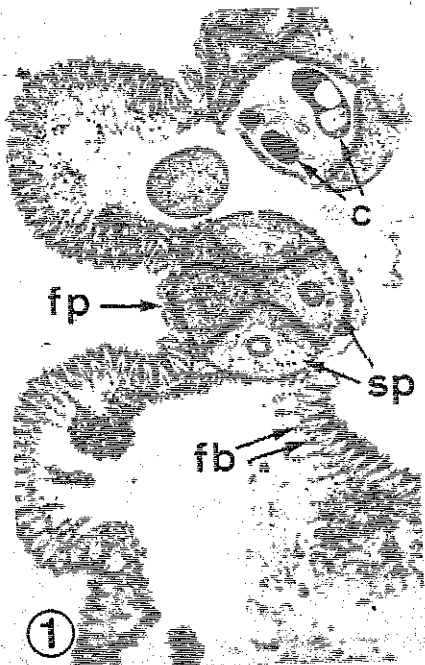
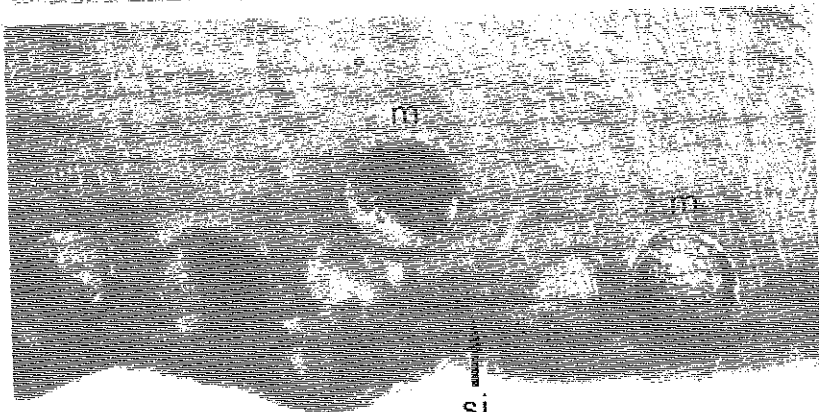
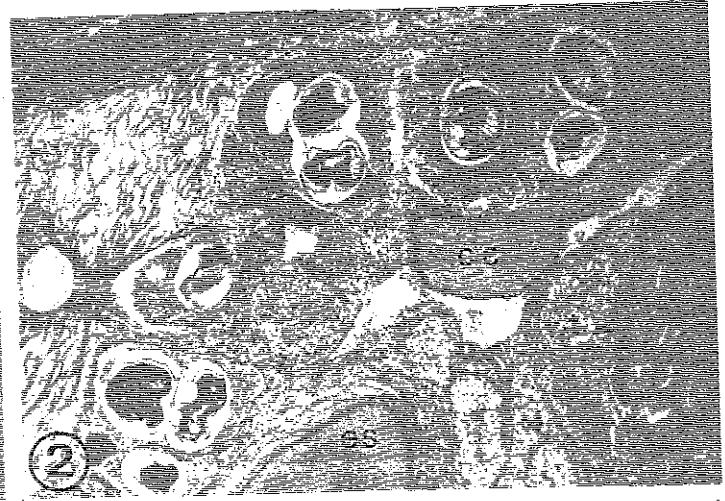
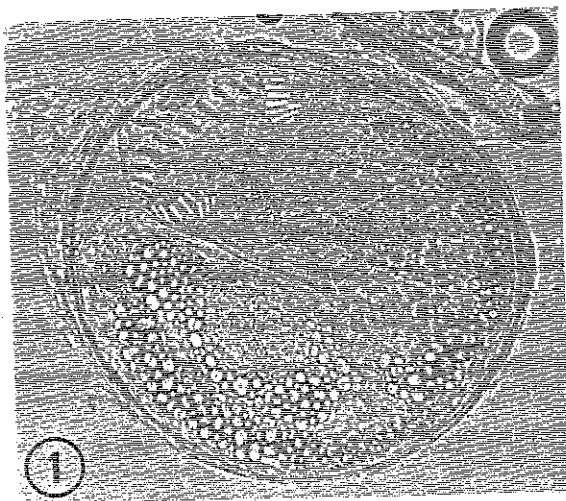


PLANCHE 18

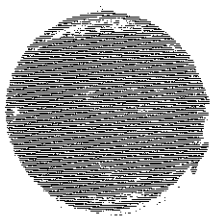
- 1 - Métacercaire de Himasthla 1 (voir aussi fig. 1, pl. 7) (G x 270).
- 2 - Coupe de la partie dorsale du corps d'une palourde fortement parasitée par H.1. (G x 77).
- 3 - Position autour du sillon byssogène des métacercaires enkystées de Himasthla 2 (frottis non coloré) (G x 68).
- 4, 5, 6 - Métacercaire d'Himasthla 2 (G x 70, 95 et 75).
- 7 - Coupe d'une branchie de palourde fortement parasitée par les sporocystes de B. bacciger. Noter la forte distension des vaisseaux afférents et le collapsus des vaisseaux efférents (flèches). (G x 35).
- 8 - Réaction leucocytaire intense autour d'une métacercaire H.2 dégénérée dans la masse musculaire du pied, à proximité de la glande byssogène (G x 360).

c.c. : connectif cérébro-viscéral
es. : estomac
h. : hémocytes
m. : métacercaires
t. : tubules digestifs
s. : sporocystes



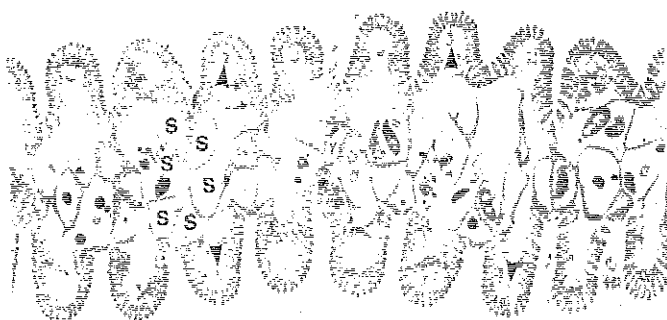
3

4



5

6



7

8

PLANCHE 19

- 1 - Coupe longitudinale d'une métacercaire H. 1 montrant l'insertion de la couronne d'épines (flèche blanche) (Hémalun - Or. G. - vert lumière) (G x 760).
- 2 - Métacercaire H. 1 dégénérée en voie de digestion cellulaire par les phagocytes de la palourde.
Remarquer l'importante vacuole digestive de l'un des phagocytes.
Feulgen - P.I.C. (G x 770).
- 3 - Poche épithéliale réactionnelle autour de quatre métacercaires de G. fossarum (frottis) (G x 100).
- 4 - Métacercaire non identifiée trouvée sur une palourde grecque (non décrite dans le texte) (G x 375).
- 5 - G. fossarum (frottis) (G x 580).
- 6 - Coupe semi-fine montrant l'épithélium réactionnel intimement appliqué sur les métacercaires de G. fossarum (G x 295).

c.e. : canal excréteur
ep.p. : épithélium palléal
ep.r. : épithélium réactionnel
k. : kyste
m. : métacercaires
ph. : phagocytes
t.c.m. : tissu conjonctif et musculaire palléal
v.a. : ventouse antérieure
v.p. : ventouse postérieure
v. : vessie

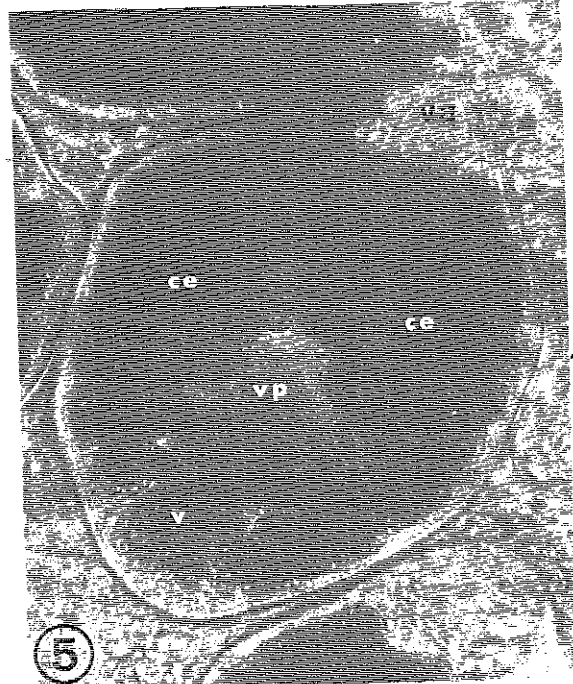
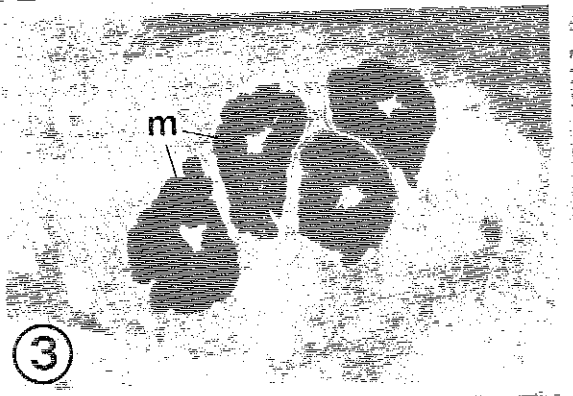
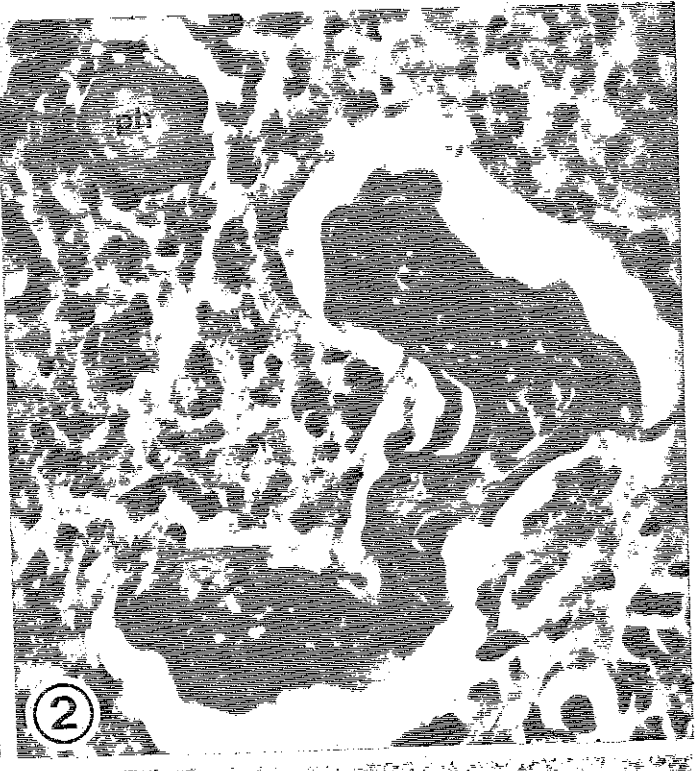
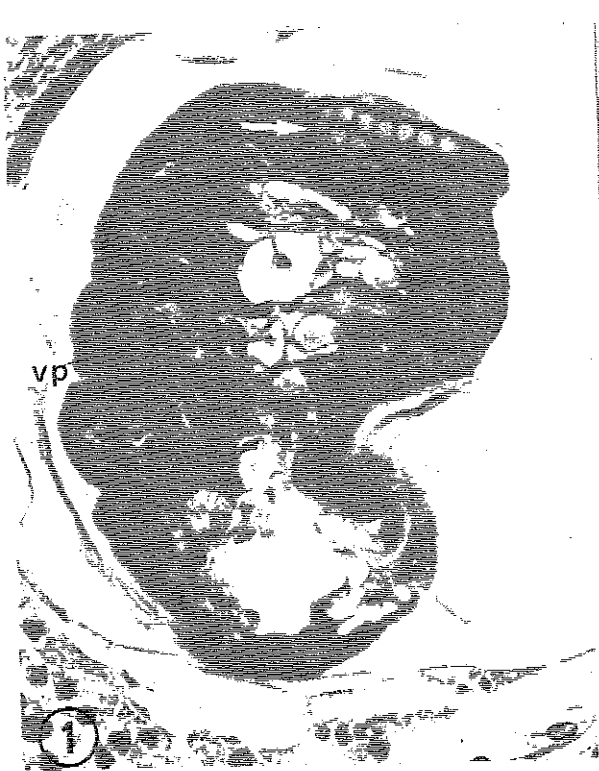


PLANCHE 20

- 1 - Coupe longitudinale horizontale d'une palourde tunisienne parasitée par des sporocystes d'un Trématode non identifié (Hémalum - Orangé G - vert lumière) (G x 23).
- 2 - Détail d'un sporocyste contenant des cellules germinales (G x 310).
- 3 - Sporocyste parasite du rein contenant 1 cercaire (G x 750).
- 4 - Concentration de phagocytes chargés de résidus d'excrétion des sporocystes (masses hyalines acidophiles colorées par l'Orangé G.) (G x 790).
- 5 et 6 - Epithélium intestinal infiltré par les phagocytes. Ceux-ci sont également présents en grande quantité dans le tissu conjonctif (G x 300 et G x 860).

c. : cercaire
c.e. : canaux excréteurs
c.g. : cellules germinales
e.i. : épithélium intestinal
es. : estomac
i.c. : intestin contourné
i.r. : intestin récurrent
m. : muscle
n. : noyau
ph. : phagocyte
sp. : sporocyste
v. : vacuole

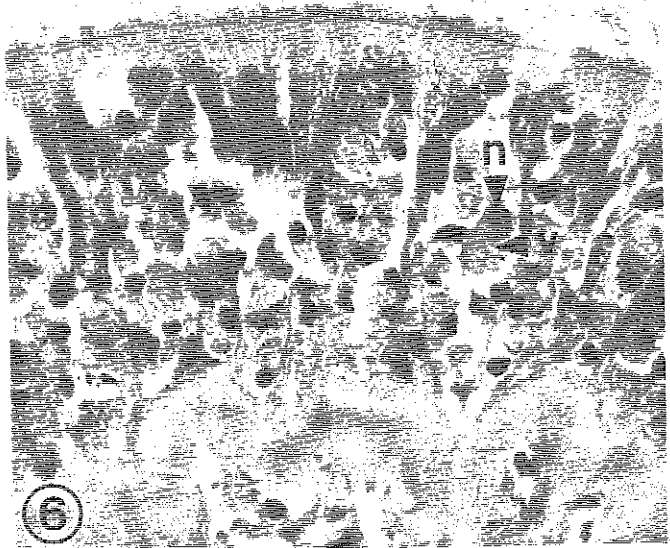
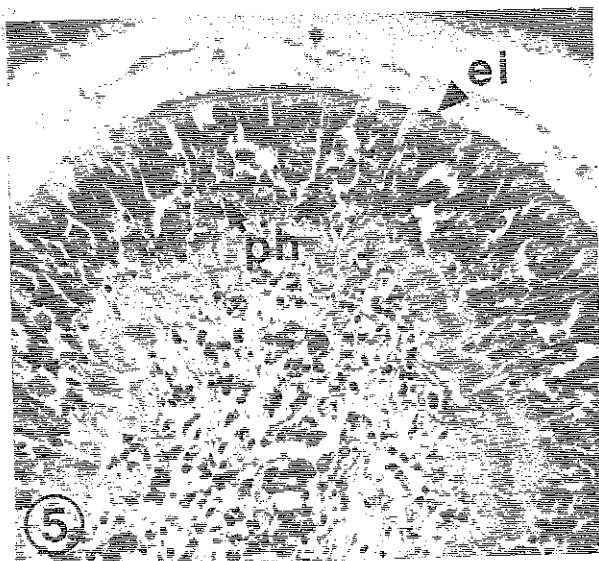
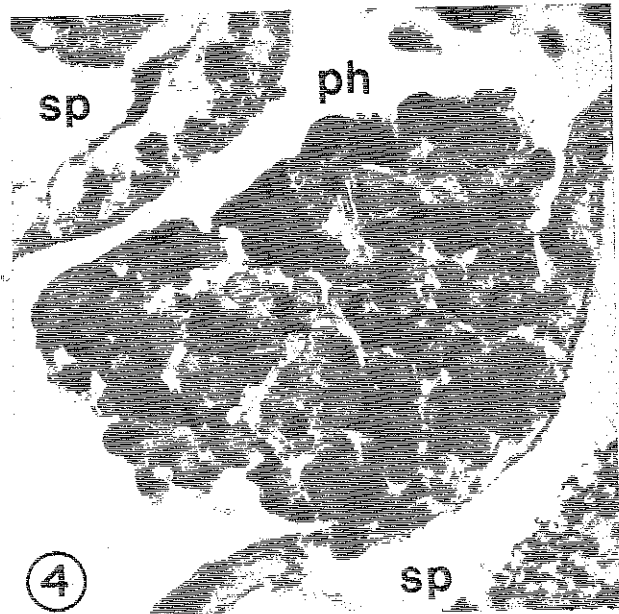
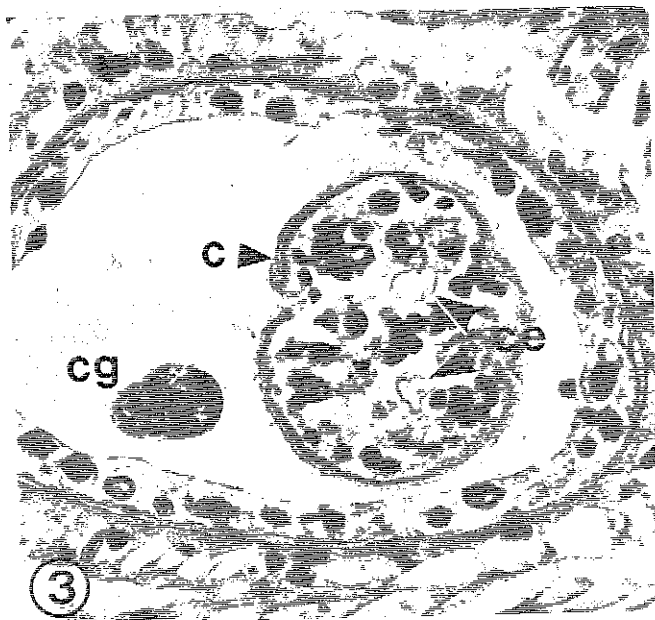
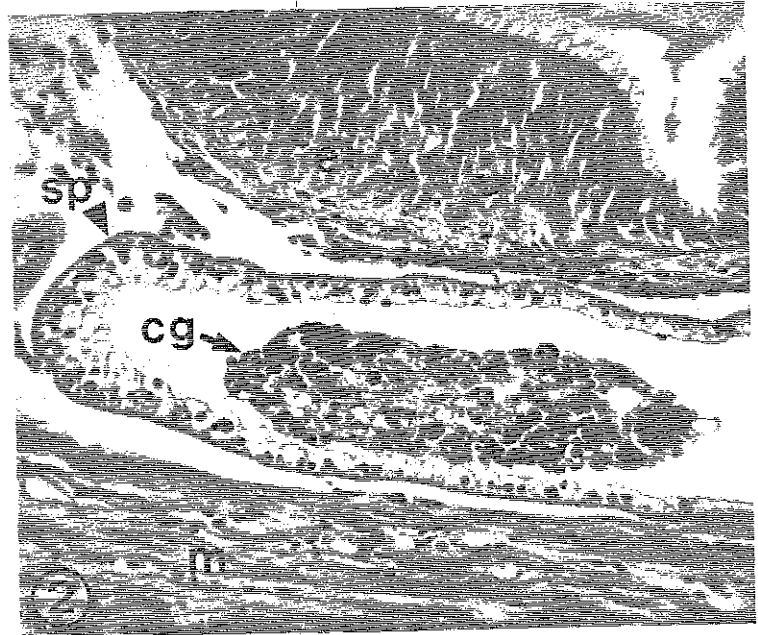
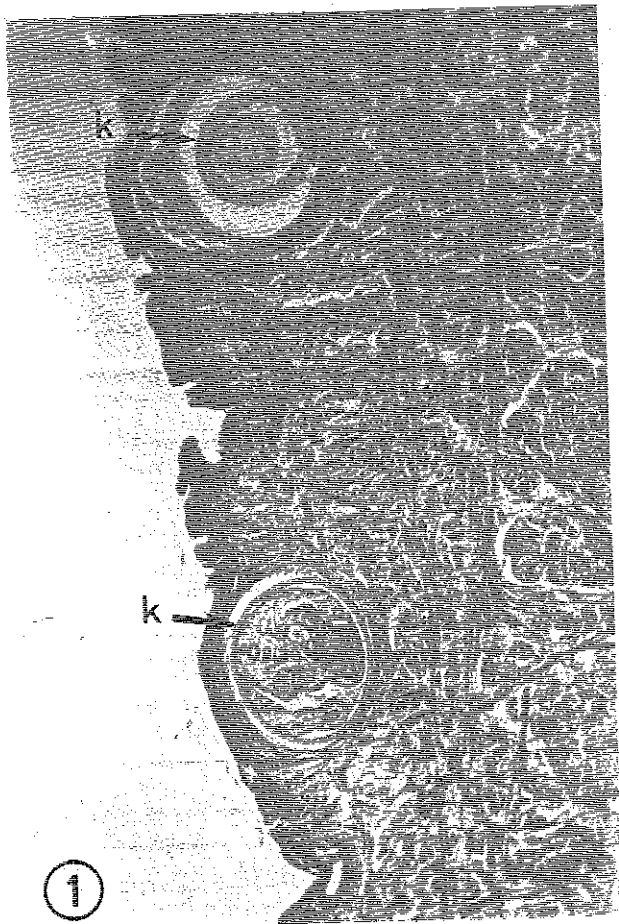


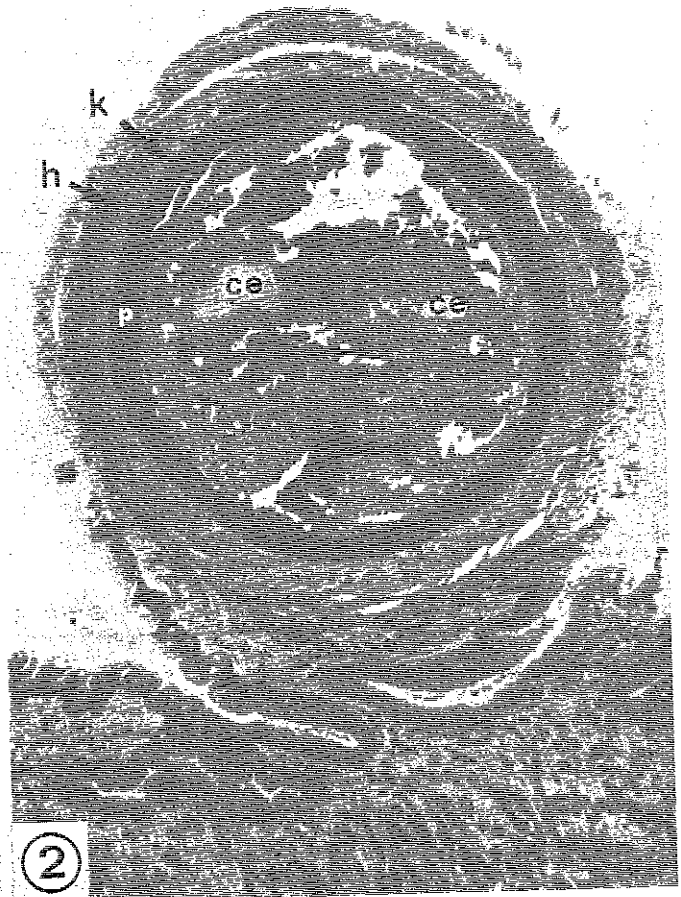
PLANCHE 21

- 1 - Coupe transversale dorso-ventrale du pied montrant la position infra-épithéliale de deux métacercaires non identifiées (G x 77).
- 2 - Coupe semi-fine (après 2ème inclusion) d'une métacercaire. Noter la paroi épaisse du kyste.
- 3 - Quatre Paravortex occupant les canaux principaux de la glande digestive d'une palourde de l'étang de Than (flèches) (G x 77).
- 4 - Coupe de Paravortex (G x 570).

c.d. : cavité digestive
c.e. : canal excréteur
c.i. : cellules indifférenciées
c.p. : canal principal
e.t.c. : épithélium tégumentaire cilié
h. : manchon d'hémocytes
k. : kyste
ov. : ovule
p. : paroi du kyste



①



②



③



④

PLANCHE 22

1 et 2 - Spores de Nematopsis dans le tissu conjonctif des filaments branchiaux (G x 1040).

3, 4, 5 et 6 - Coccidies parasites de l'épithélium de l'intestin contourné (Photos 4, 5 et 6 : G x 1200 - Photo 3 : G x 810).

e.i. : épithélium intestinal
f.b. : filaments branchiaux
m.b. : membrane basale
n.c.h. : noyaux des cellules-hôtes
n. : noyau
n.h. : noyau hémocytaire
nu. : nucléole
p. : parasite
r.d.i. : résidus de digestion intracellulaire
s. : spore
sp. : sporoplasme
t.L. : tissu de Leydig
v. : vacuole

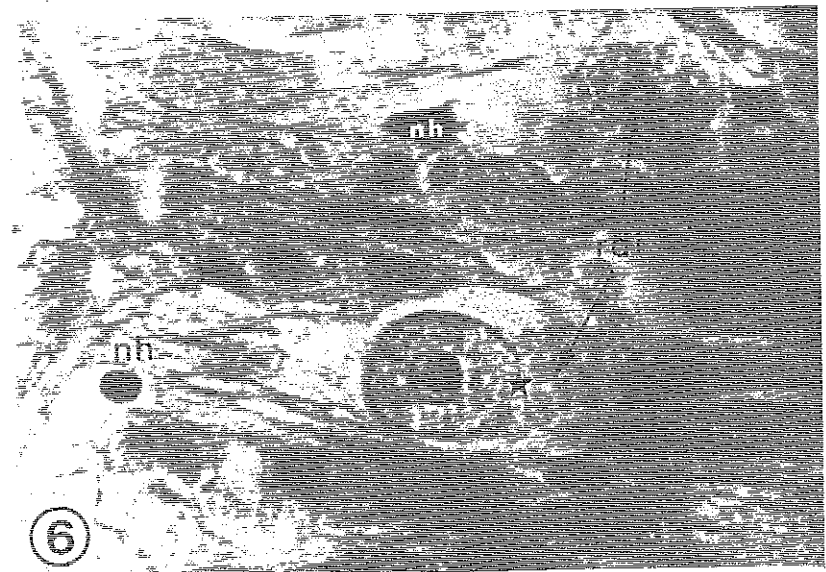
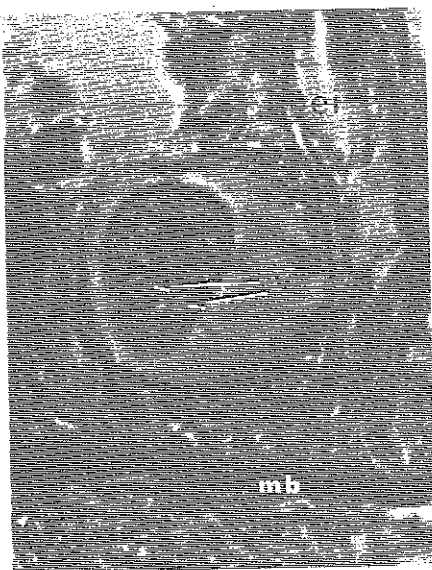
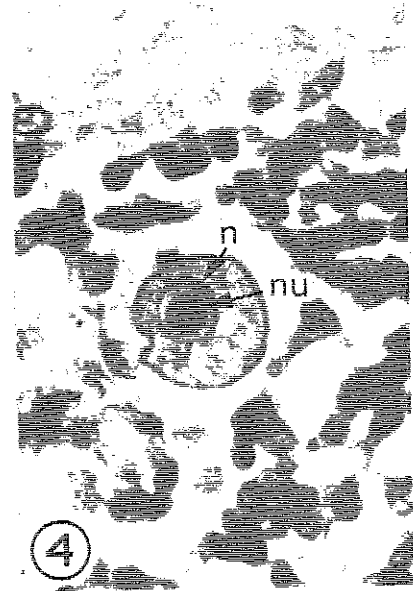
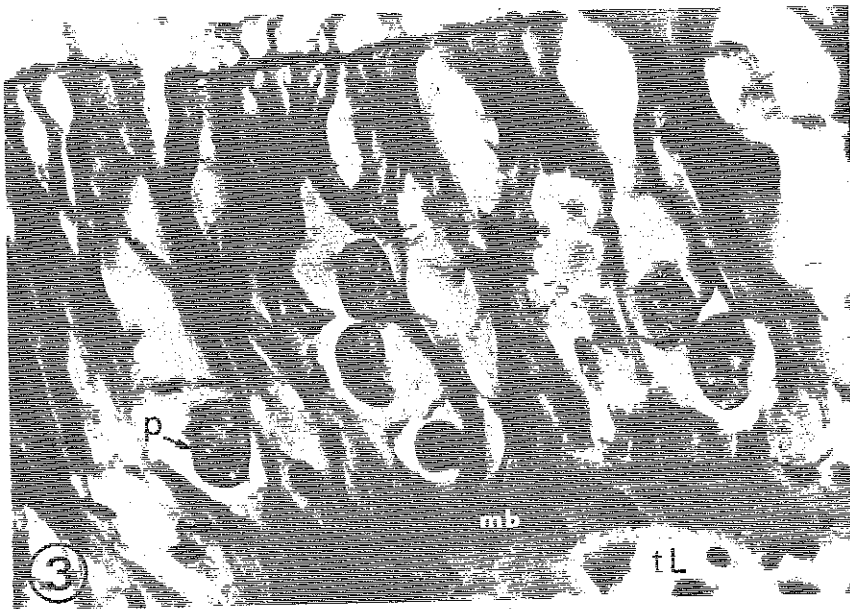
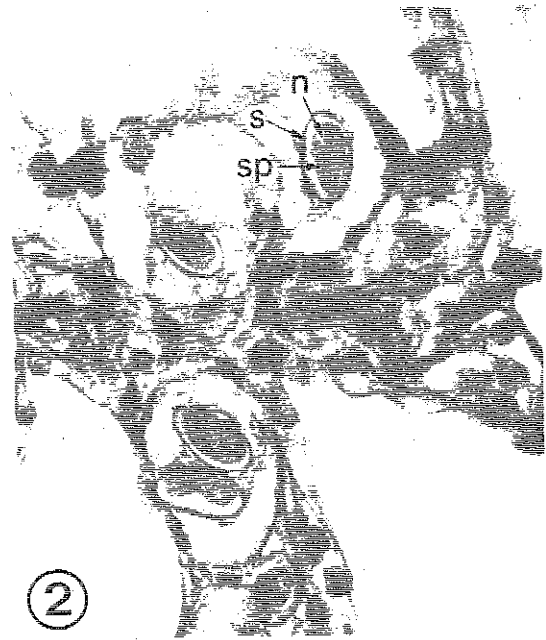
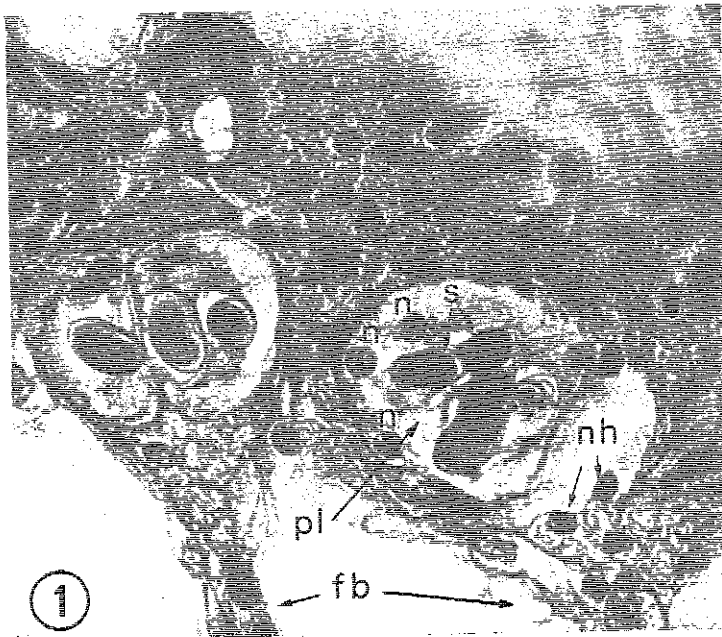


PLANCHE 23

- 1 et 2 - Haplosporidies parasites de l'épithélium stomacal. Les flèches indiquent la membrane de la cellule parasitée (G x 1050).
- 3 - Un plasmode d'Haplosporidie. Microscopie électronique. **G x 11300**
- 4 - Détail : noter le réticulum endoplasmique entourant les mitochondries.
G x 27 000
- 5 - Plasmode d'Haplosporidie : noter les deux noyaux semblant relier par une structure organisée (grande flèche) et les digitations de la membrane cytoplasmique (petites flèches).

en. : endosome
h. : haplosporosomes
m. : mitochondries
m.p. : membrane plasmique
n. : noyau
p. : parasite
r.e. : reticulum endoplasmique
v. : vacuole

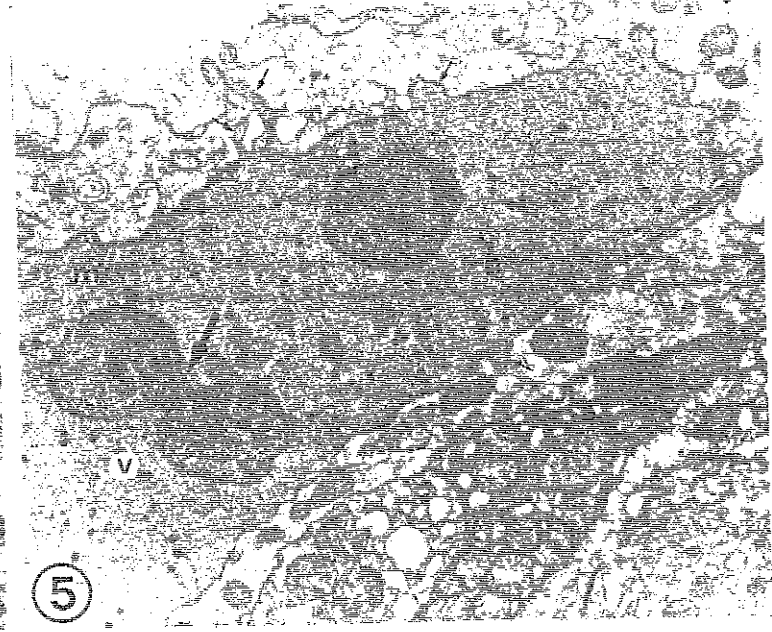
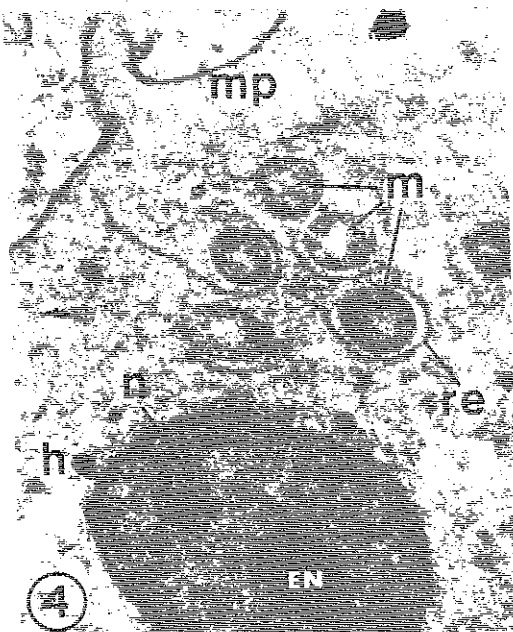
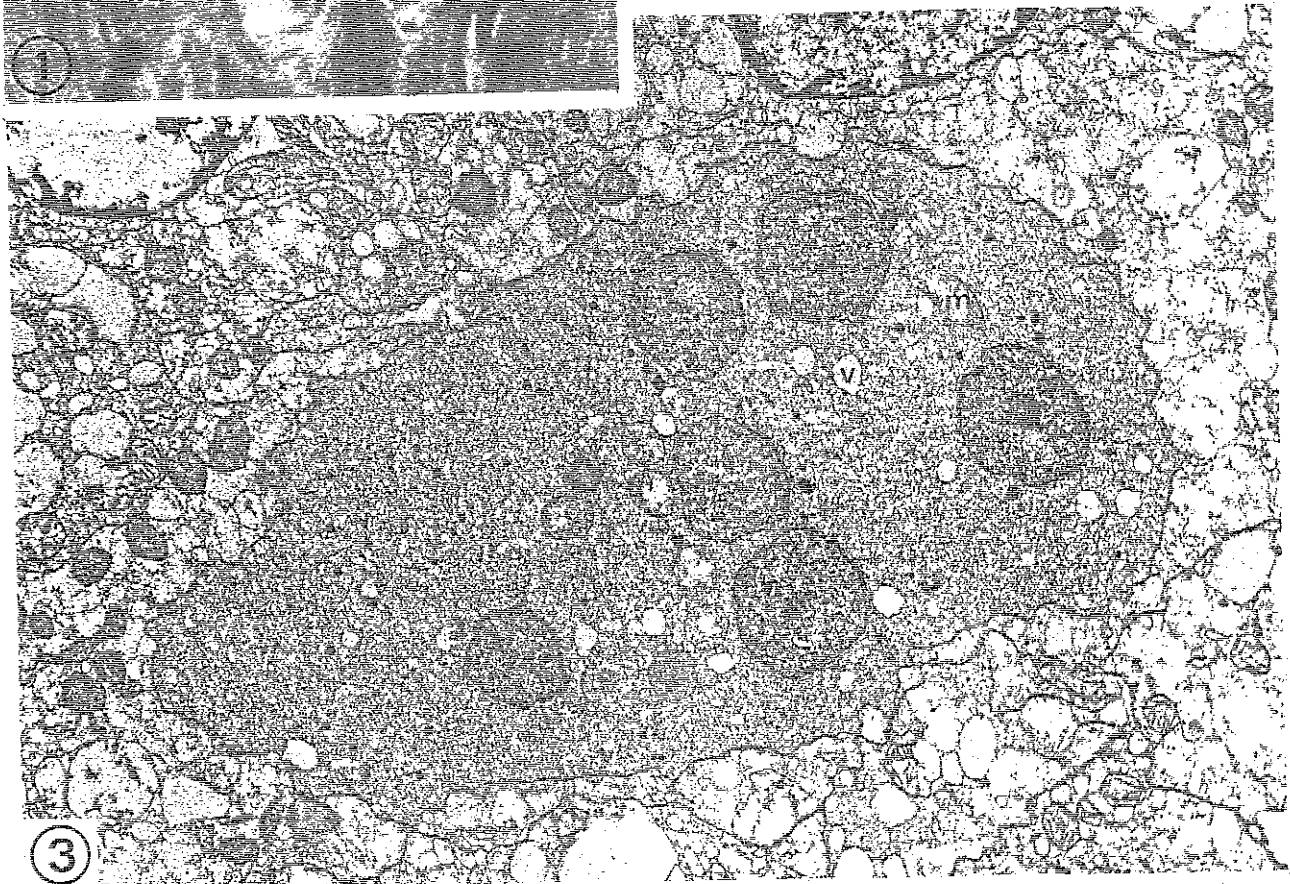
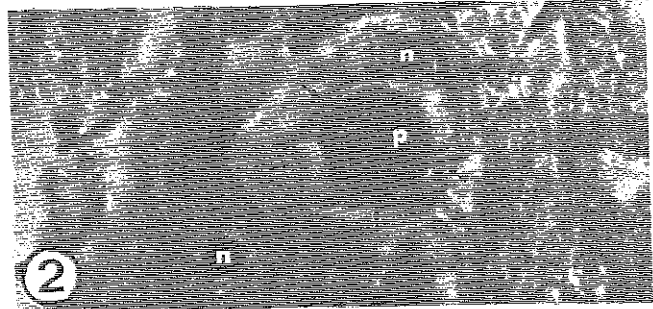


PLANCHE 24

- 1 - Plasmode d'Haplosporidie : mitochondrie et haplosporosomes (G x 89000).
- 2 - Idem : structure paracrystalline (flèche) (G x 44000).
- 3 et 4 - Idem : microfibrilles (G x 44800).
- 5 - E. coli et Micrococcus marina après trois heures en eau de mer
(Microscopie électronique : G x 12200).
- 6 et 7 - Microscopie en fluorescence des "poches" à bactéries à la base
des filaments branchiaux (DAPI).
- 8 - Détail des corps bactériens.

b. : bactéries
f. : microfibrilles
f.b. : filament branchial
h. : haplosporosomes
m. : mitochondries
n. : noyau

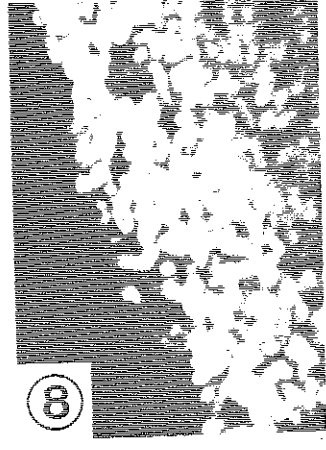
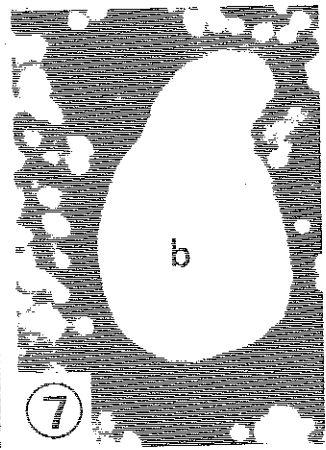
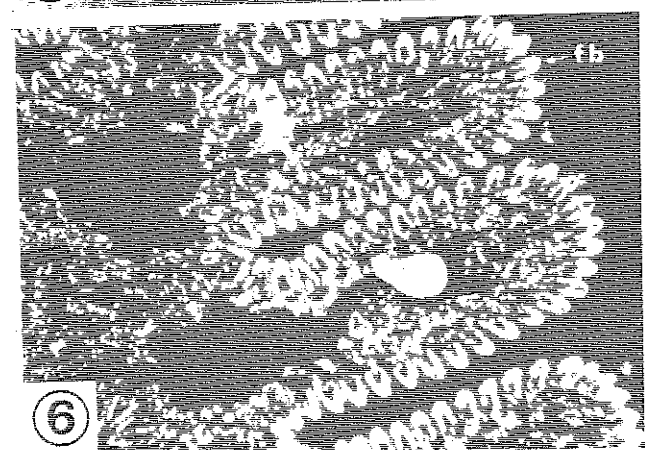
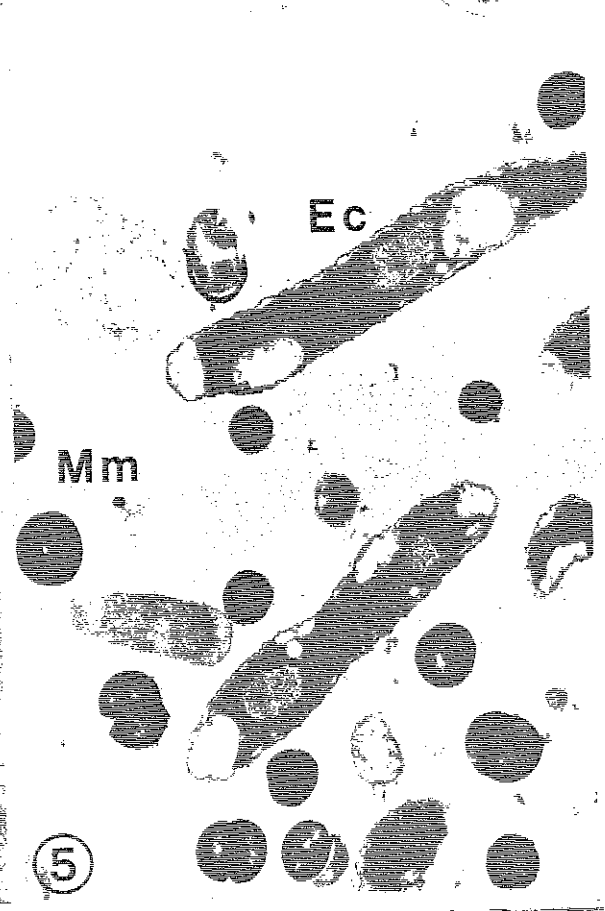
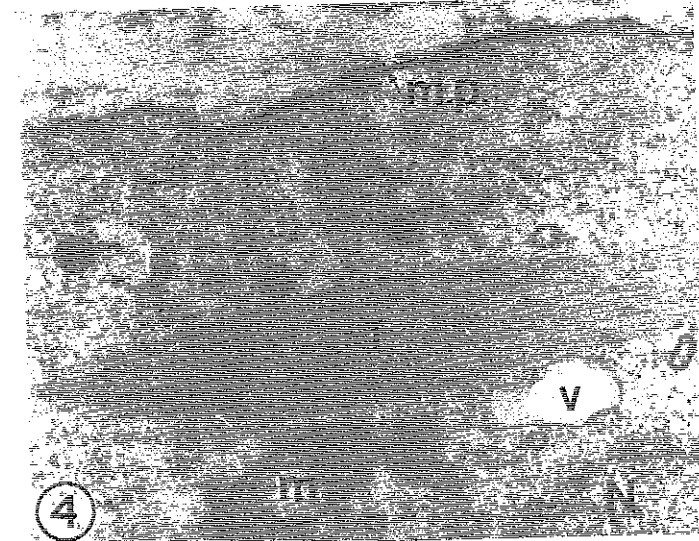
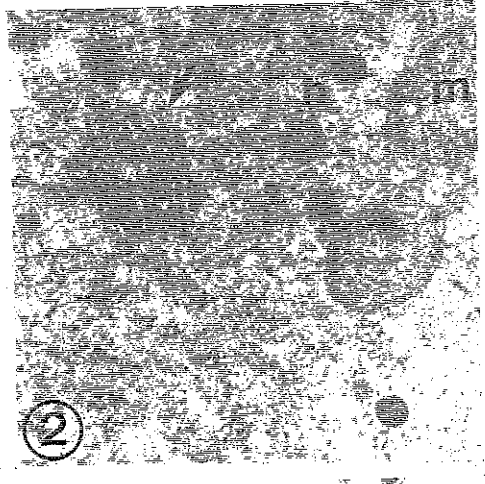
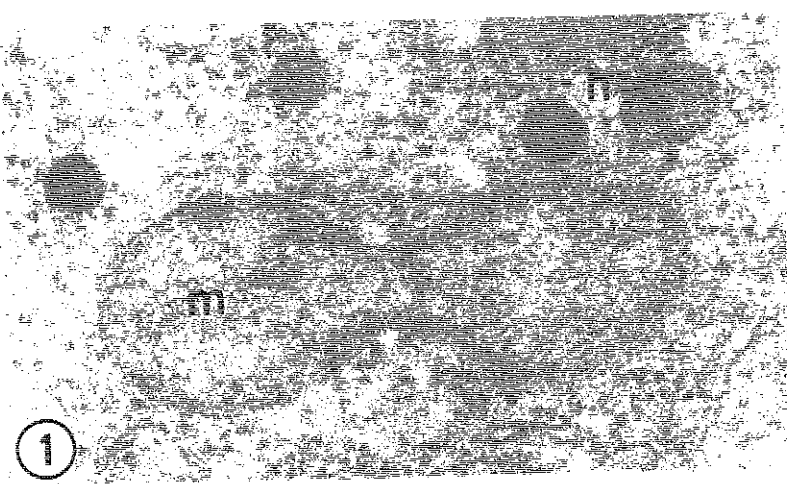


PLANCHE 25

- 1 - Filament branchial avec bactéries parasites intracellulaires (c. semi-fine) (G x 1000).
- 2 - Frottis montrant une cellule parasitée phagocytée par un hémocyte. Bleu de Toluidine (G x 870).
- 3 - Bactéries parasites. Microscopie électronique (G x 12000).
- 4 - Détail : noter la structure membranaire double de la "vacuole" contenant les parasites (G x 26000).
- 5 - Détail de la structure membranaire (G x 228000).
- 6 - Détail des corps bactériens (G x 78800).

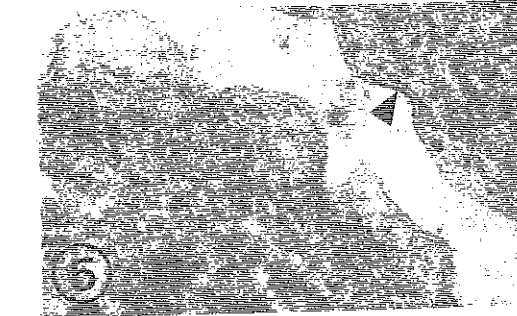
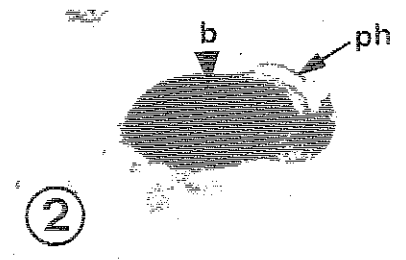
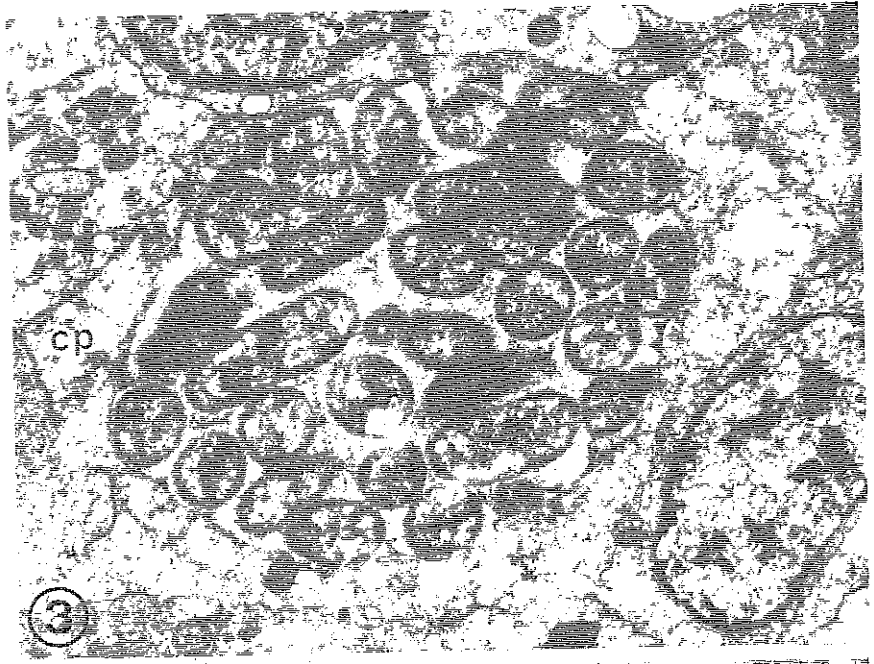
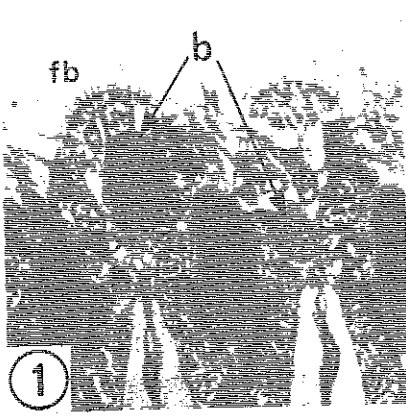


PLANCHE 26

Fig. 1 : Corps de type bactérien, parasites du filament branchial (G x 15200).
La flèche indique l'accolement des 4 membranes.

Fig. 2 : Détail montrant les deux membranes unitaires limitantes, le corps sphéroïde (c.s.) et les inclusions denses aux électrons (G x 58800).

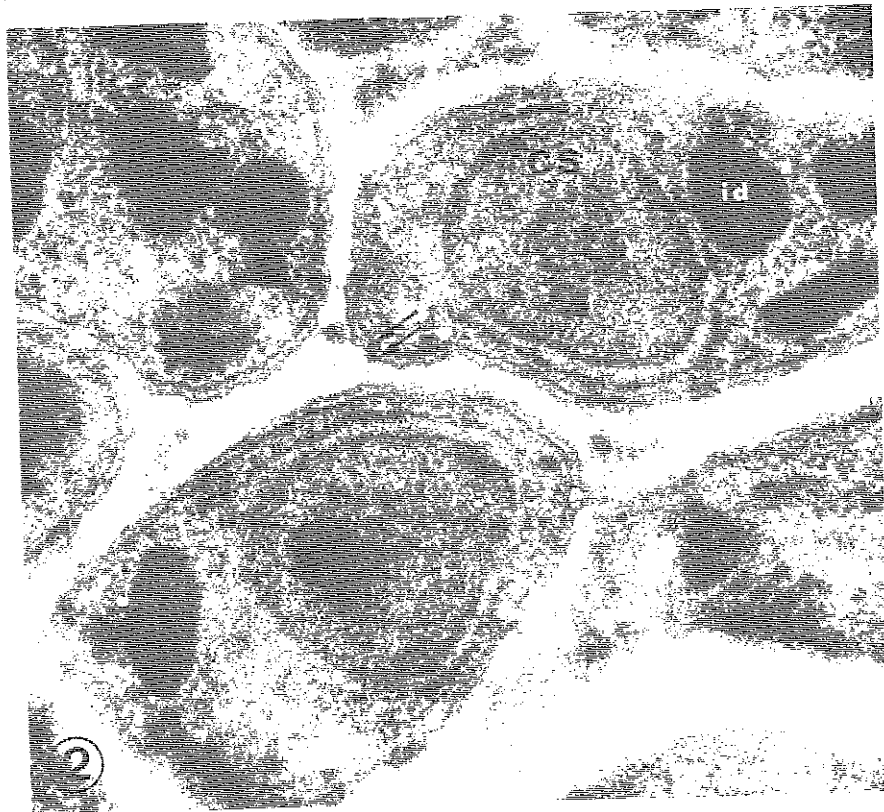


PLANCHE 27

Photo 1 : "Poche" de bactéries (B) accolées aux lacunes sanguines des filaments branchiaux. Palourde Tunisienne.

Photo 2 : La "poche" de bactéries est une extension de l'épithélium des lacunes sanguines (e.l.s.).
Coupe semi-fine. Bleu de Toluidine (G x 800).

Photo 3 : Coupe passant en bordure de la "poche" de bactéries montrant l'épithélium microvillaire (mv.) des lacunes sanguines (e.l.s.).
Noter la membrane limitant la "poche" bactérienne (flèche).
Microscopie électronique (G x 5600).

Photo 4 : Détail des corps bactériens dont on discerne bien le matériel nucléaire (m.n.) au sein d'un matériel finement granuleux de type ribosomal (G x 14400).

Photo 5 : Détail de deux membranes unitaires (m.u.) séparant deux bactéries (G x 72600).

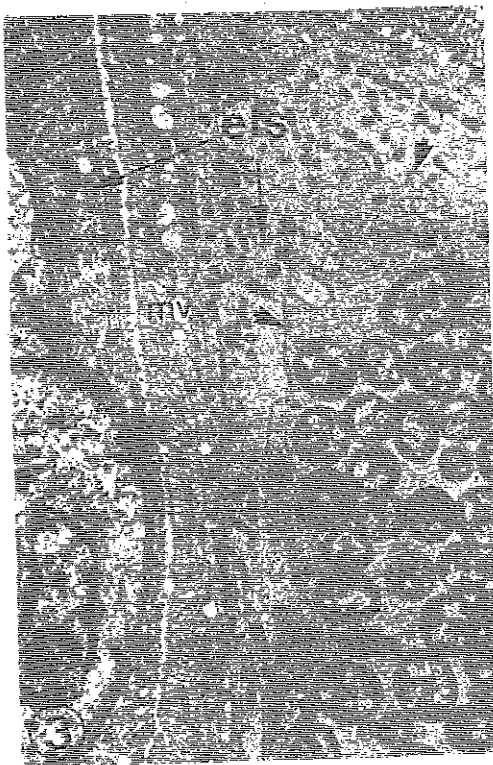
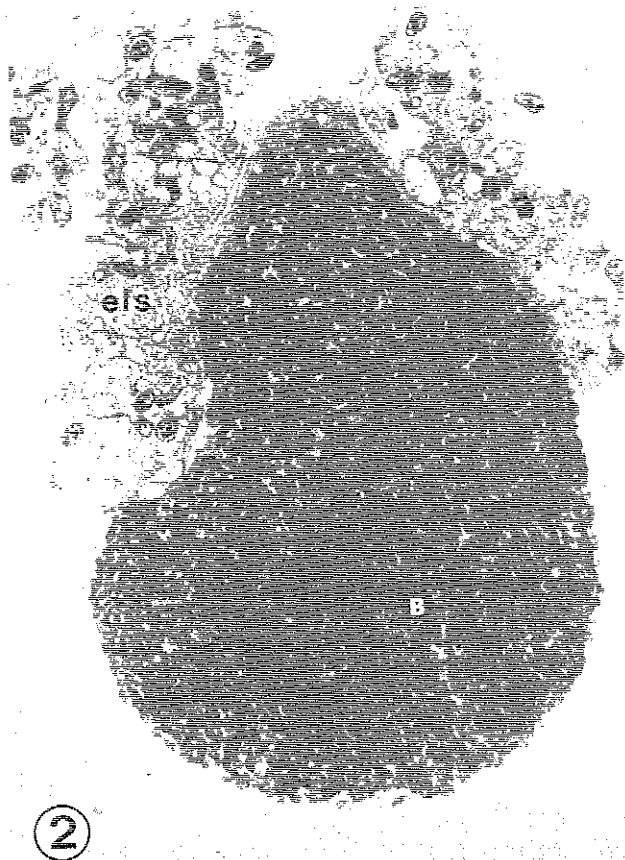


PLANCHE 28

Photo 1 : Mise en évidence du matériel nucléaire des corps bactériens parasitent des branchies.

Palourde de Sète. Microscopie en fluorescence.

Acridine orange.

Photo 2 : Détail de la dilatation de l'épithélium des lacunes sanguines (e.l.s.) englobant la "poche" bactérienne (B). Coupe semi-fine. Bleu de Toluidine. Palourde Grecque (G x 800).

Photo 3 : Coupe passant par le bord de la "poche" épithéliale contenant les bactéries. Palourde Grecque (G x 7800).

Photo 4 : Détail du corps bactériens dont on discerne le matériel nucléaire (m.n.) entouré du matériel granuleux ribosomal. Structure identique à celle des bactéries observées sur les palourdes Tunisiennes (G x 21600).

Photo 5 : Détail d'un corps bactérien (G x 31500).

Photo 6 : Remarquer la membrane unitaire limitante des bactéries. Noter l'épaisseur supérieure du feuillet externe (G x 53500).

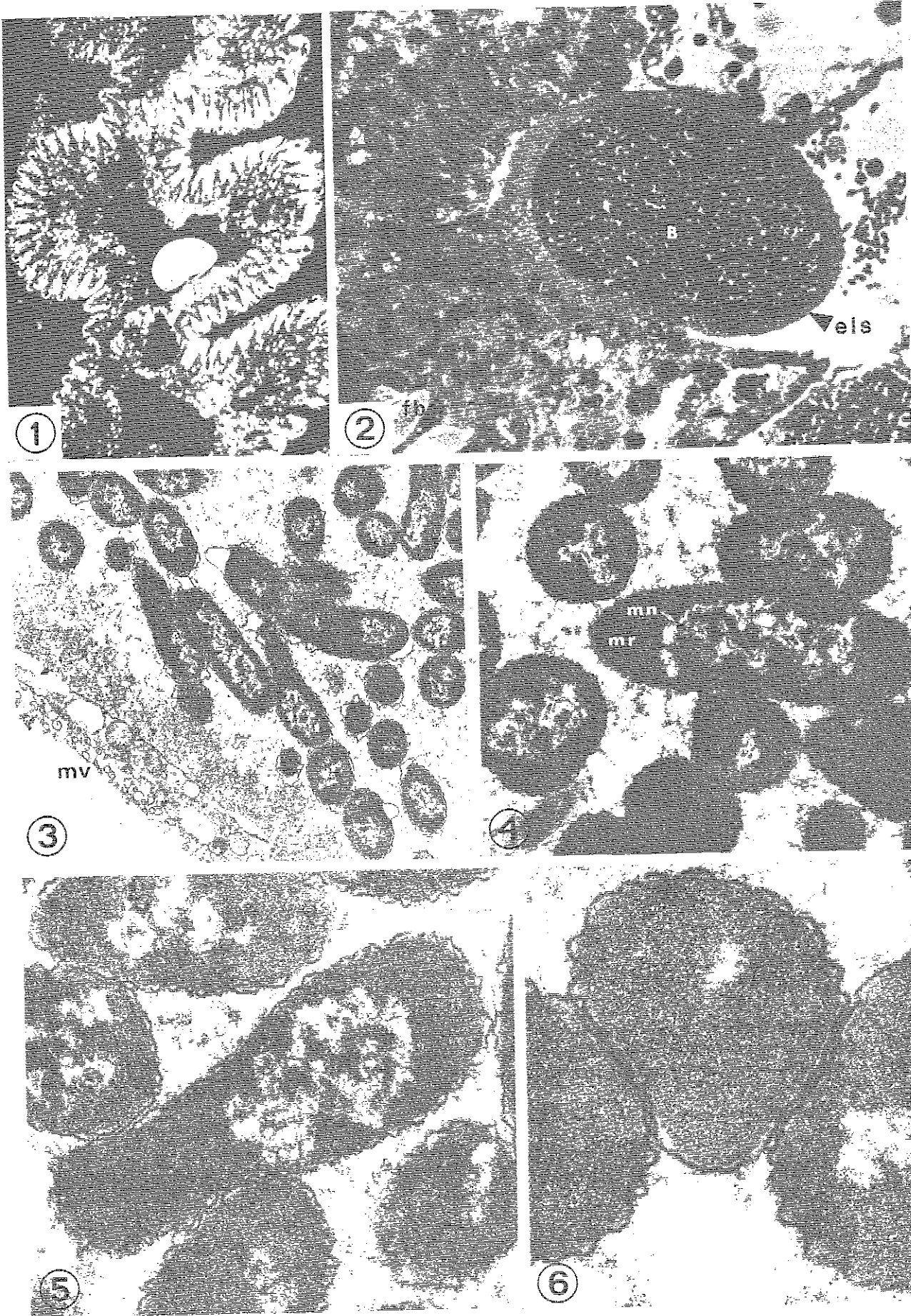


PLANCHE 29

- 1 - Coupe histologique montrant 2 plages (p) de parasites au sein de l'épithélium des tubules digestifs. Noter les noyaux des cellules parasitées (n) rejetés à la périphérie. Hemalun - Orangé G - Vert lumière (G x 1100).
- 2 - Coupe histologique en microscopie à fluorescence (fixation au Davidson) montrant 2 plages de parasites dont la fluorescence bleu atteste la structure de type ADN du matériel nucléaire. D.A.P.I. (G x 1100).
- 3 - Coupe d'une partie d'une plage montrant la situation intravacuolaire des parasites. Microscopie électronique (G x 7600).
- 4 - Formes de condensation ultimes des corps intermédiaires en corps élémentaires (flèches) (G x 30500).
- 5 - Corps initial (c.i.) et corps initial en division (c.d.). Corps élémentaire (c.e.) dont on distingue le nucléoïde central entouré de matériel granuleux (G x 70600).
- 6 - Corps intermédiaire (c.in.) et corps intermédiaire en phase de condensation (flèche) : remarquer la position excentrée du nucléoïde (G x 70600).

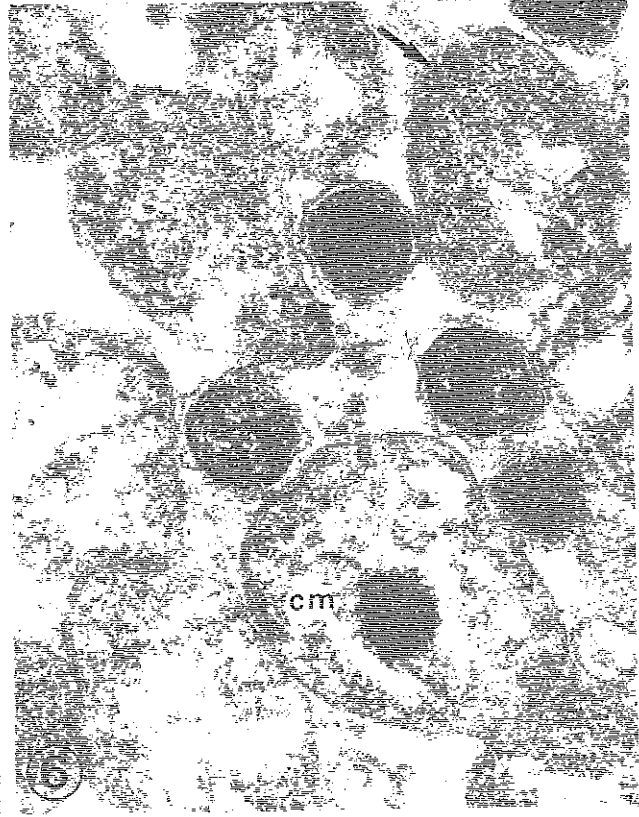
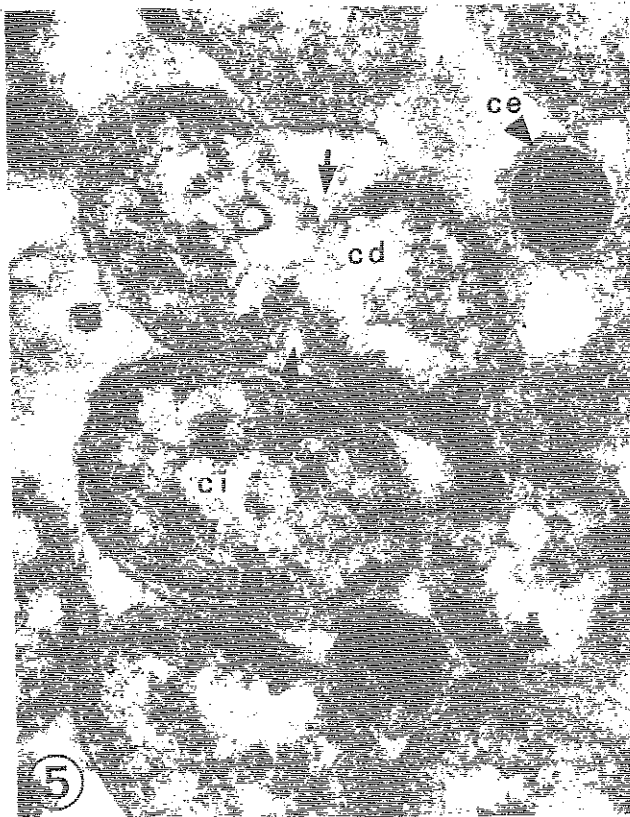
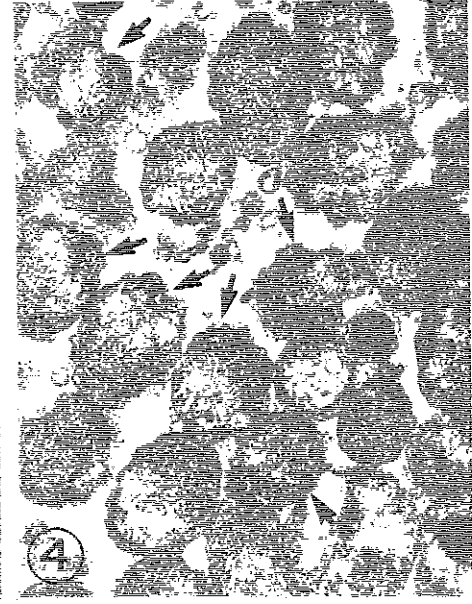
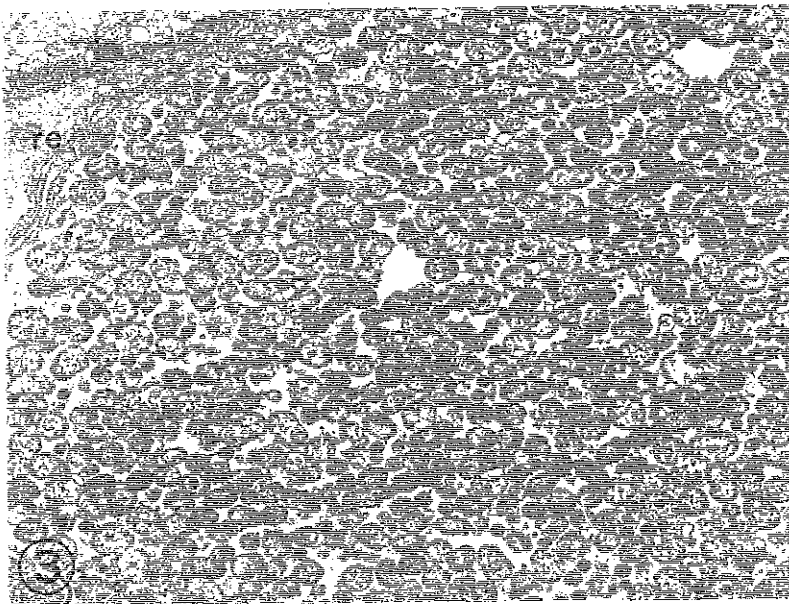
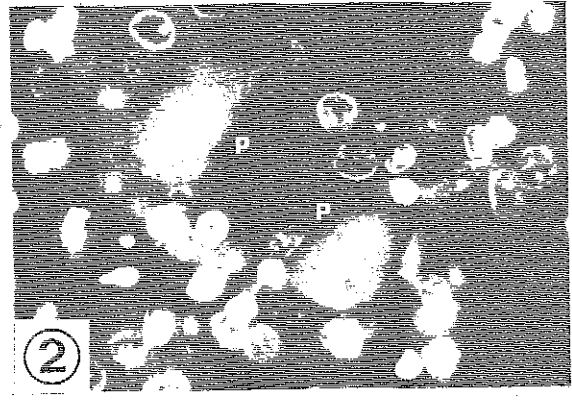
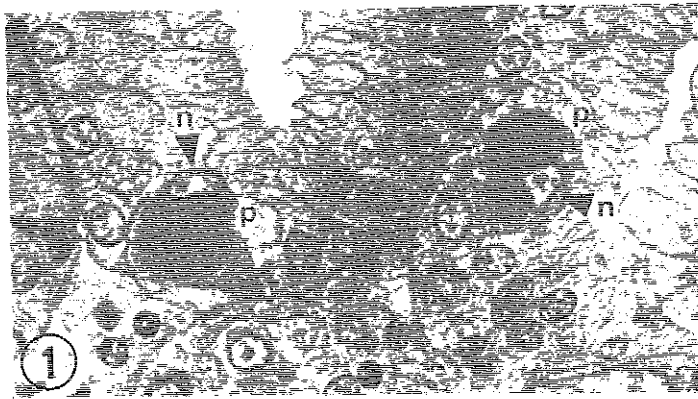


PLANCHE 30

Expériences de concentration bactériennes

1 - Estomac 30 mn

2 - Intestin contourné 30 mn

3 - Intestin récurrent 30 mn

4 - Estomac 1 H

5 - Intestin contourné 1 H

6 - Intestin récurrent 1 H

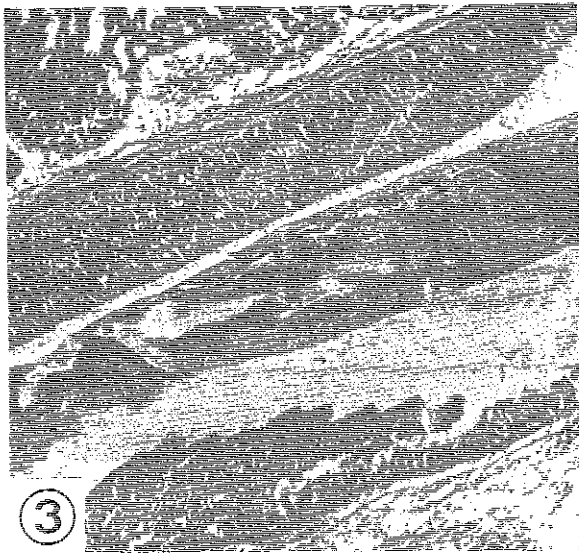
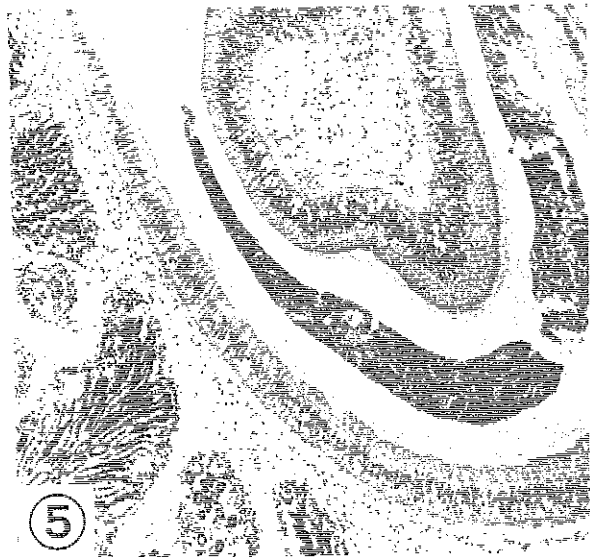
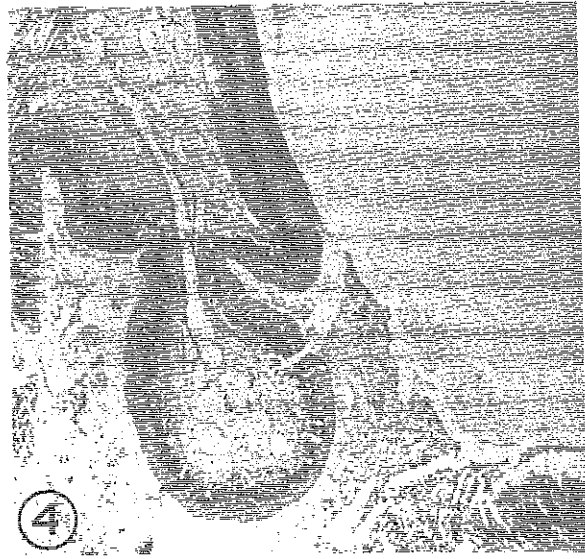
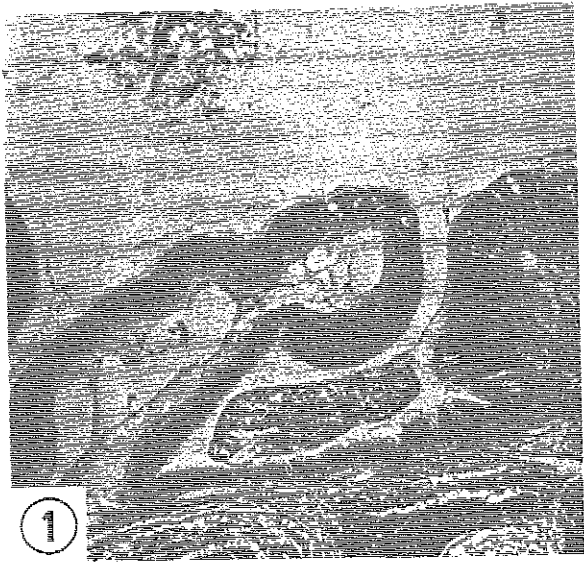


PLANCHE 31

1 - Estomac tubulaire 2 H

2 - Intestin contourné 2 H

3 - Intestin récurrent 2 H

4 - Estomac 22 H

5 - Intestin contourné 22 H

6 - Intestin récurrent 22 H

