

CARACTERISATION DES HEMOCYTES D'UN MOLLUSQUE BIVALVE MARIN, LA NACRE, *PINNA NOBILIS* L. 1758

HENRY M.¹ VICENTE N.² et HOUACHE N.²

¹ Service Commun de préparation des Echantillons pour la microscopie électronique (SCEM), BP C 41, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, 13397 MARSEILLE Cédex 13

² Centre d'Etude des Ressources Animales Marines (CERAM), Case 341, Faculté des Sciences de Saint-Jérôme, 13397 MARSEILLE Cédex 13

RESUME : L'étude des affinités tinctoriales, du comportement *in vitro*, et de l'ultrastructure des hémocytes de *Pinna nobilis* permet de caractériser 2 grandes catégories cellulaires : les granulocytes basophiles, neutrophiles et éosinophiles; les hyalinocytes, parmi lesquels nous distinguerons le petit hyalinocyte, le hyalinocyte à réticulum endoplasmique lisse et le groupe des macrophages. Les hémocytes participent vraisemblablement à la régulation métabolique par stockage et dégradation du glycogène, aux processus de détoxification par accumulation d'éléments minéraux dans leurs lysosomes et à la défense de l'organisme par phagocytose et lyse bactérienne.

Mots clés : hémocytes, affinités tinctoriales, ultrastructure, fonction, *Pinna*, bivalves

HEMOCYTE CHARACTERISATION OF THE MARINE BIVALVE MOLLUSC *PINNA NOBILIS*

ABSTRACT : The study of tinctorial affinities, *in vitro* behaviour and ultrastructure of the hemocytes of *Pinna nobilis* allows us to group them into two main families : basiphilic, neutrophilic and acidophilic granulocytes; hyalinocytes, three categories can be distinguished among these cells : small hyalinocytes, hyalinocytes containing smooth endoplasmic reticulum and the macrophage population. The hemocytes participate in the regulation of metabolism by the storage and degradation of glycogen. They contribute to the detoxification process by the sequestration of mineral elements in their lysosomes. Their role in antibacterial defense is suggested by their bacterian phagocytic activity.

Keywords : hemocytes, tinctorial affinities, ultrastructure, function, *Pinna*, bivalves

INTRODUCTION

Les cellules de l'hémolymphe ou hémocytes ont été étudiées depuis fort longtemps chez les mollusques bivalves marins pour essayer de comprendre leurs divers états morphologiques et fonctionnels. (CUENOT, 1891; BETANCES, 1921).

Durant ces dernières décennies (revues de CHENG, 1975,1981) la participation des hémocytes à la défense des organismes est recherchée d'autant que le système immunitaire des mollusques est encore très mal connu; les bivalves d'intérêt économique important tels les huîtres (RUDDLELL 1971; FENG et al., 1971; AUFFRET, 1989) les palourdes HENRY, (1987) les coquilles St-Jacques (HENRY et al., 1989) sont étudiés en priorité. De plus le rôle des hémocytes dans les processus physiologiques de détoxications (GEORGE et al., 1978) et dans la réponse aux variations des paramètres de l'environnement, température (HENRY, 1987; FISHER et al., 1987), salinité (FISHER et NEWELL, 1986) ne cesse d'être approfondi.

Dans le cadre d'un programme de recherches sur la biologie et l'écologie d'un mollusque marin de grand intérêt écologique, la nacre Pinna nobilis (VICENTE et al., 1980; COMBELLES et al., 1988) nous nous sommes attachés à étudier pour la première fois à notre connaissance les cellules hémocytaires; nous avons d'abord recherché leurs caractéristiques ultrastructurales puis leurs divers aspects fonctionnels.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel : Les nacres de 20 à 50 cm, ont été prélevées en plongée sous marine dans la passe de Bagaud (île de Port-Cros, Var, -22 m) et dans l'étang de Diane, Corse (-2 m). Elles sont maintenues dans des aquariums de 96 litres à 18°-20°C, la salinité est à 34‰, l'éclairage naturel; l'eau de mer est filtrée par une pompe Eheim et oxygénée par diffuseurs d'air.

2. Méthodes : L'hémolymphe est ponctionnée dans la cavité péricardique à l'aide d'une pipette Pasteur rodée. L'étalement des hémocytes est réalisé par centrifugation sur "cyto-spin" à 500 tours pendant 15 mn à la température ambiante. Les lames sont ensuite colorées au May-Grünwald-Giemsa (M.G.G.) et montées au Depex. La survie des hémocytes in vitro s'effectue en flacon stérile de 50 ml. Les hémolymphe de plusieurs animaux sont cumulées de manière à recouvrir le fond d'un flacon. Les cellules sont maintenues à 18°C-20°C et observées au microscope inversé à contraste de phase pendant 15 mn, 30 mn, 60 mn et 90 mn. Les cellules adhérant au fond du flacon sont fixées dans une solution de glutaraldéhyde à 2% en eau de mer, pendant 60 mn à + 4°C; elles sont ensuite lavées en tampon phosphate-saccharose 0,33 M (1v/3v) pendant 10 mn à + 4°C et déshydratées par l'alcool 95°C pendant 10 mn, à + 4°C. Les fonds des flacons sont sciés, rincés à l'alcool et colorés au bleu azur ou au MGG.

Microscopie électronique à transmission : Les hémocytes fraîchement ponctionnés sont fixés (v/v) avec une solution de glutaraldéhyde à 2% en tampon phosphate selon SORENSEN (0,1M, pH 7.4, + 4°C, additionné de NaCl à 3% selon la technique de MOORE et LOWE (1977)). Ils sont centrifugés en tubes Eppendorf à 1200 tours pendant 15 mn à + 4°C; le surnageant est enlevé et remplacé par du fixateur frais pendant 45 mn à + 4°C. Les culots cellulaires sont lavés en tampon phosphate-saccharose (0,33 M) (1v/3v) pendant 10 mn à 4°C, puis post fixés 30 mn à 4°C dans une solution de tétroxyde d'osmium à 2% en tampon phosphate SORENSEN 0,1 M. Après lavage de 10 mn et déshydratation à 4°C dans des bains d'alcools les culots sont immergés 30 mn en oxyde de propylène et inclus en Epon 812 selon LUFT (1961). Les coupes ultra fines sont contrastées à l'acétate d'uranyle suivi de citrate de plomb.

Spectrométrie de rayons X : Les coupes ultra fines (100 nm) sont recueillies sur grilles recouvertes de formvar (LADD 2.5%). Le contenu des lysosomes secondaires est analysé par microanalyse qualitative de rayons X sur microscope électronique en balayage à transmission PHILIPS EM 400 T équipé d'un détecteur SI-LI (Tracor TNL 2000). *

* Centre Commun de Microscopie Electronique et de Microanalyse X (CERAM), Faculté des Sciences et Techniques, Saint-Jérôme, Marseille Cedex 13.

RESULTATS

1. Caractéristiques morphologiques. (Pl. I) Les hémocytes observés après centrifugation sur cyto-spin et coloration au May-Grünwald Giemsa peuvent être scindés en deux grands groupes :

1.1. Les granulocytes (Pl. I figs 1 et 2) : Ils sont caractérisés par la présence dans leur cytoplasme de très nombreux granules ronds de taille assez homogène (Pl. I fig 1). Leur noyau est arrondi, rouge vif, central ou excentré. Selon l'affinité tinctoriale des granules nous distinguerons divers types : (Pl. I, fig. 1). Les granulocytes basophiles majoritaires à granules bleus foncés (fig. 1 flèche pointillée), les granulocytes neutrophiles beaucoup moins nombreux à grains rose beige (fig. 1 double flèche) les granulocytes acidophiles rares, à grains rouges vifs de petite taille. (flèche). Quelques granulocytes ont des grains mixtes.

Il existe aussi des granulocytes à grains optiquement vides (fig.2).

1.2. Les hyalinocytes (Pl. I, fig.3 à 8) : Ils sont de taille variable et leur cytoplasme est basophile. Ils peuvent être divisés en 2 groupes :

- les hyalinocytes s. st. : leur cytoplasme est parfaitement hyalin. (fig. 3 et 5 à 8). Les plus petits ont un volumineux noyau central arrondi rouge violet et un mince liseré cytoplasmique bleu. (fig.5). Les hyalinocytes de taille supérieure comprennent 1 et souvent 2 noyaux (fig.6); ils portent parfois de longs et fins pseudopodes. Certains sont de très grande taille et peuvent contenir jusqu'à neuf noyaux en région centrale, formant ainsi un plasmode (fig.7). Ils phagocytent parfois des cellules nécrosées à noyau violet pycnotique (fig 8 flèche).

- les hyalinocytes à lysosomes de taille et forme hétérogène : Certaines de ces cellules ont un noyau central, des voiles hyaloplasmiques périphériques importants, de longs et fins pseudopodes et des lysosomes peu nombreux épars dans le cytoplasme. D'autres cellules, en nombre important ont un noyau arqué repoussé à la périphérie et un cytoplasme fortement chargé en lysosomes le plus souvent bleu foncé de forme et taille très hétérogène (fig. 4).

2. Survie in vitro : (Planche I, figs 9 à 13) 15 minutes après leur ensemencement les hémocytes adhèrent au support et sont le plus souvent isolés (fig. 9). Pendant la première demi-heure nous pouvons observer les grands voiles hyaloplasmiques des macrophages et des granulocytes (fig.10). Les granulocytes sont identifiables par l'accumulation des granules autour du noyau. Les macrophages présentent des organites cytoplasmiques plus épars dans le cytoplasme. Entre 30 mn et 60 mn. les macrophages émettent de très longs pseudopodes (flèches) leur permettant de s'unir par groupe de 2 (fig.11) puis par plusieurs (fig. 12). Après 90 mn., les hémocytes forment de véritables dômes résultant d'un empilement de cellules au centre de la colonie (fig. 13).

3. Etude ultrastructurale :

L'analyse ultrastructurale des hémocytes de la nacre Pinna nobilis permet de distinguer deux grands types morphologiques : Les hémocytes granuleux ou granulocytes, caractérisés par un cytoplasme rempli de grains et les hémocytes hyalins ou hyalinocytes.

3.1. Les granulocytes :

- Les granulocytes à grains denses (Pl. II, fig. 1) : Ils présentent le plus souvent un noyau central à contour irrégulier; le cytoplasme est très fortement rempli de grains en majorité ronds et denses aux électrons. Le matériel granulaire est en fait d'aspect variable; il est toujours contenu dans une vacuole dont la membrane limitante plus ou moins ondulante est séparée par un espace clair de taille variable, du contenu granulaire. Au sein des vacuoles nous pouvons observer plusieurs types de grains : Les uns clairs aux électrons montrent un matériel finement granulaire plus ou moins abondant. Les autres sont ronds et denses aux électrons. Il est fréquent d'observer dans une même vacuole la fusion de deux grains denses de même taille ou de taille différente. (fig.1 flèche). Certains grains denses peuvent avoir une forme polygonale et présenter une alternance de couches claires et sombres (fig.1 double flèche).

- Les granulocytes à grains clairs : (Pl. II, fig.2). Ils sont caractérisés par un noyau arrondi repoussé à un pôle cellulaire. Leur cytoplasme contient de nombreuses vésicules et tubules de réticulum lisse, des corps multivésiculaires, des mitochondries, des ribosomes et de grandes vacuoles claires. Certaines vacuoles contiennent un matériel finement granuleux de densité moyenne aux électrons (Pl.II, fig.2 flèches).

3.2. Les hyalinocytes : Parmi les hyalinocytes nous distinguerons divers types :

- Les petits hyalinocytes (Pl. II, fig.3). Ils sont de forme ronde ou ovale et caractérisé par un rapport nucléocytoplasmique élevé. Leur noyau central contient une hétérochromatine importante. Le cytoplasme est réduit à un mince liseré et contient de nombreux ribosomes et des vésicules de pinocytose.

- Les hémocytes hyalins jeunes ou macrophages jeunes (Pl. II, fig 4) : ils présentent un noyau central riche en euchromatine. L'hétérochromatine est réparti en un fin liseré marginal et quelques mottes éparses dans le nucléoplasme. Le cytoplasme contient peu d'organelles : quelques mitochondries, de courtes lamelles ergastoplasmiques, des vésicules, de rares corps denses mais de nombreux ribosomes, souvent groupés en polysomes. A la périphérie cellulaire, nous observons les grands voiles hyaloplasmiques contenant des microfibrilles et des microfilaments sous-jacents au plasmalemme.

- Les hémocytes à réticulum lisse : (Pl. III, fig.1). Ces cellules sont caractérisées par un noyau rond central ou légèrement excentré et un cytoplasme rempli principalement de vésicules et de courts tubules. Quelques vacuoles peuvent être observées ainsi que des mitochondries, de courtes lamelles ergastoplasmiques, des rares gouttelettes lipidiques et des corps denses. La cellule émet des pseudopodes et des voiles hyaloplasmiques.

- Les hémocytes mûrs : (Pl. III, fig.2). Les hémocytes mûrs ont leur noyau repoussé à un pôle; le cytoplasme présente de nombreux et longs pseudopodes parfois refermés pour former une vacuole de phagocytose . Nous observons dans le cytoplasme des vésicules, des mitochondries, des vacuoles autophagiques et des corps denses.

- Les hémocytes âgés : (Pl. III, fig. 3 et Pl. IV). Le noyau est arqué ou polylobé et toujours repoussé à un pôle. Le cytoplasme est caractérisé par l'abondance des lysosomes secondaires.

Les lysosomes et les vacuoles de phagocytose des macrophages sont souvent très volumineux : ils contiennent des aiguilles denses aux électrons (Pl. III, fig. 3 flèches et Pl. IV, fig. 1 flèche) dont nous avons analysé la composition chimique (§ 4); nous y observons également des bactéries peu dégradées (Pl. IV, fig. 1 double flèche) ou en cours de dégradation (Pl IV, fig. 2 flèche). Certains macrophages (Pl IV, fig.3) ont ingéré une cellule nécrosée caractérisée par un noyau pycnotique et un cytoplasme altéré. D'autres (Pl. IV, fig.4) présentent de volumineux lysosomes de type vacuoles autophagiques contenant principalement de très nombreuses particules de glycogène ainsi que des mitochondries et des tubules de réticulum lisse en cours de dégradation.

4 - Analyse qualitative du contenu des lysosomes par spectrométrie de rayons X.

Le contenu des lysosomes de Pinna nobilis (Pl. III, fig. 3 et Pl IV, fig.1 flèches) a été analysé par microanalyse qualitative de rayons X. Les résultats exprimés dans la fig.1 montrent une accumulation d'éléments qui sont par ordre décroissant le Silicium, l'Aluminium, le Plomb, le Potassium et le Chlore.

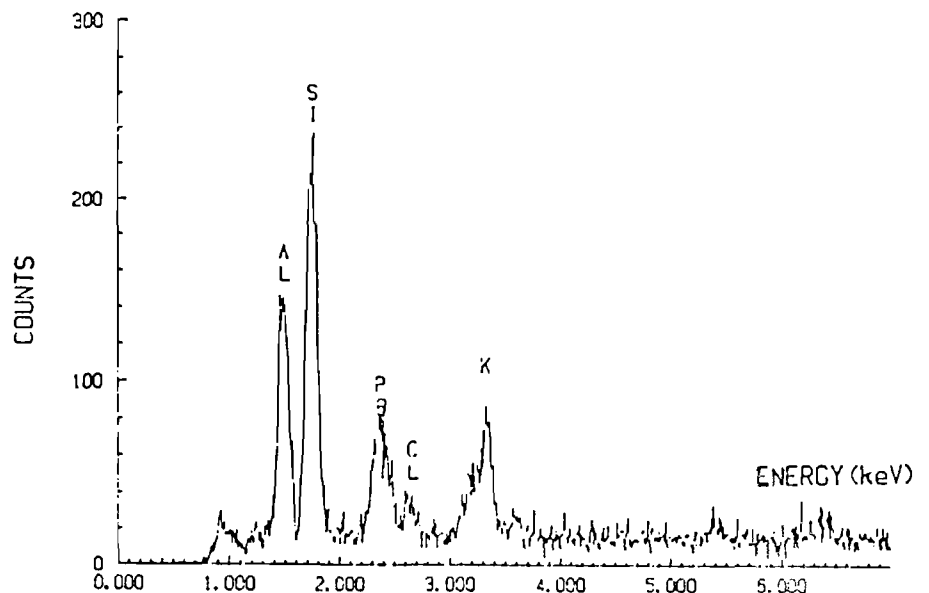


Fig. 1 : Spectrogramme des éléments détectés par analyse de rayons X dans les lysosomes des macrophages de Pinna nobilis.

DISCUSSION - CONCLUSION

Les hémocytes de la nacre, Pinna nobilis, peuvent être scindés en deux grands groupes : les granulocytes et les hyalinocytes. Les granulocytes sont caractérisés par l'abondance de leurs grains ronds intrahyaloplasmiques. Les trois types de granulocytes - basophiles, neutrophiles et éosinophiles sont présents chez Pinna comme chez la majorité des bivalves (CHENG, 1975, 1981; AUFFRET, 1985, 1989; CHAGOT, 1989), alors qu'ils semblent totalement absents chez Pecten (AUFFRET, 1985; HENRY et al. 1989). Les granulocytes basophiles sont fortement majoritaires chez les nacres; les hémocytes à grains clairs, également nombreux, pourraient traduire un relargage des contenus granulaires dans l'hémolymphe, phénomène semblable à la dégranulation des basophiles et mastocytes de mammifères (ROITT et al., 1985). Les quelques granulocytes mixtes observés pourraient correspondre à différentes étapes de maturation des granules puisqu'il est connu depuis fort longtemps que la chromophilie d'une cellule peut varier au cours de sa morphogénèse (BETANCES, 1921). Les hyalinocytes - toujours basophiles - doivent être scindés en plusieurs groupes. Les petits hyalinocytes omniprésents chez les bivalves et désignés par convergence morphologique avec les vertébrés-lymphocytes - (MOORE et LOWE, 1977; BUBEL et al., 1977). Les hyalinocytes à réticulum lisse sont également présents chez Ostrea, Crassostrea (AUFFRET, 1985, 1989; CHAGOT, 1989) et Pecten (HENRY et al., 1989); ils pourraient être précurseurs des granulocytes (AUFFRET, 1985) ce qui n'exclut pas qu'ils puissent être une étape de maturation des macrophages ou un type hémocytaire à part entière. Les autres hyalinocytes doivent représenter les différents états de la lignée macrophagique : les stades les plus jeunes ont un noyau central, de grands voiles hyalo-plasmiques, des pseudopodes et un cytoplasme hyalin. Ils se différencient en forme mûre par acquisition de grains denses hétérogènes. De tels grains contiennent chez Mercenaria (MOORE et GELDER, 1985), Mytilus (BAYNE et al., 1979) et les Ostreidae (AUFFRET, 1985) des enzymes lysosomales. Les formes les plus âgées accumulent les déchets et séquestrent les polluants jouant ainsi un rôle dans la détoxification (GEORGE et al., 1978). Les hémocytes de la nacre stockent et réutilisent le glycogène, participant ainsi, - comme cela fut montré chez d'autres bivalves - à une régulation du métabolisme (CHENG, 1975; HENRY, 1987). Les hémocytes de Pinna, ainsi que ceux des huîtres (AUFFRET, 1985) ou des palourdes (HOUACHE, 1990) adhèrent au support puis confluent. Ces facultés d'adhésivité et de déplacement qui sont un indicateur de vitalité du système de défense d'un organisme (FISHER et NEWELL, 1986) suggèrent une bonne efficacité des mécanismes de défense de la nacre. De plus des plasmodes ont été fréquemment observés dans l'hémolymphe de Pinna; ils sont semblables à ceux décrits *in vitro* chez Ruditapes (AUFFRET, 1985) ou dans des cellules stimulées de mammifères (THOMAS et al., 1971). L'existence de ces cellules géantes traduit les capacités de déplacement et fusion des macrophages pour une meilleure défense de l'organisme. L'observation de bactéries en cours de dégradation dans les lysosomes, confirme l'activité phagocytaire et digestive des macrophages de Pinna.

LEGENDE DES PLANCHES

Abréviations : C = cytoplasme; CD = corps dense; CMV = corps multivésiculaire; Cn = cellule nécrosée; D = dôme; E = euchromatine; Er = ergastoplasme; G = glycogène; Gc = grain clair; GD 1 = grain dense; GD 2 = grain dense cristallisé; Gr = granulocyte; H = hétérochromatine; L = lipide; Ly = lysosome; M = mitochondrie; Ma = macrophage; Mj = macrophage jeune; N = noyau; Np = noyau pycnotique; P = polysome; Ps = pseudopode; R = ribosome; T = tubule; V = vésicule; Vp = vésicule de pinocytose; V = vacuole; VA = vacuole autophagique; VH = voile hyalo-plasmique; VP = vacuole de phagocytose.

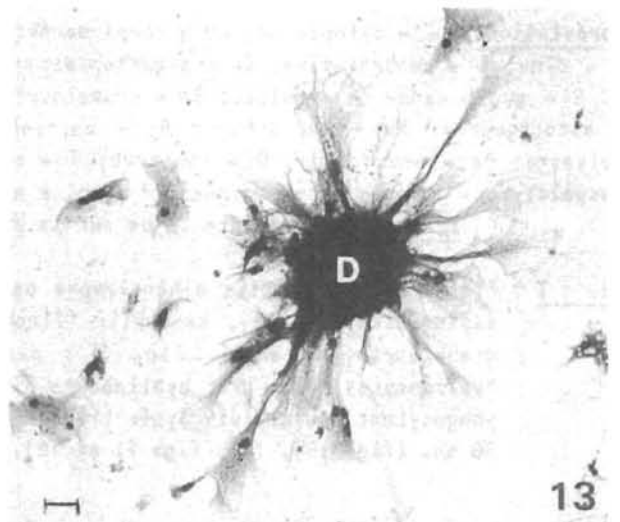
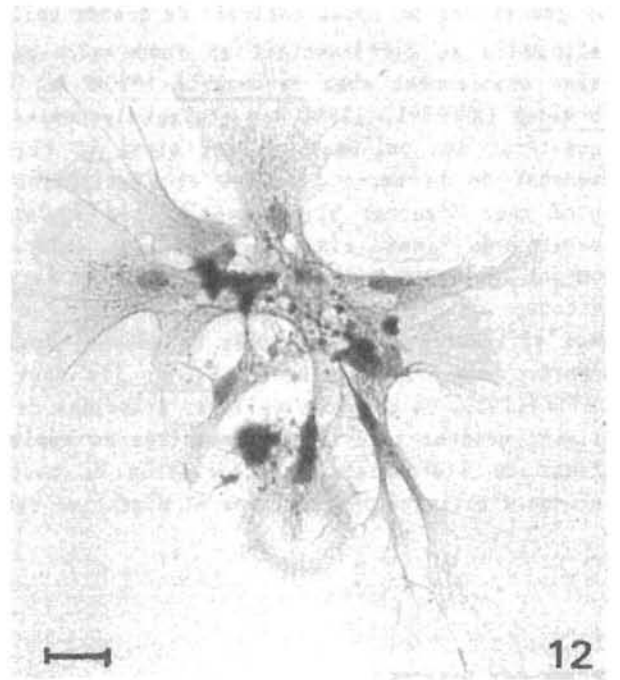
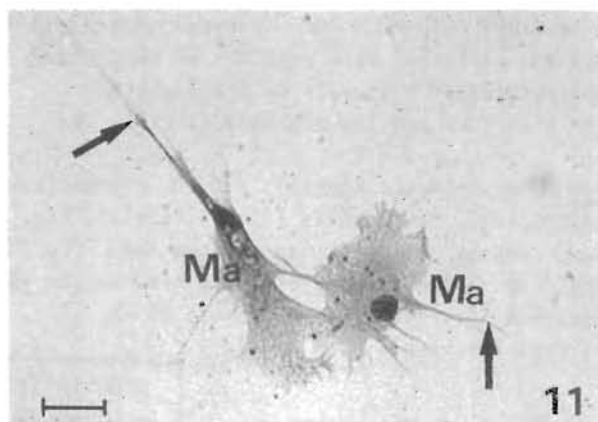
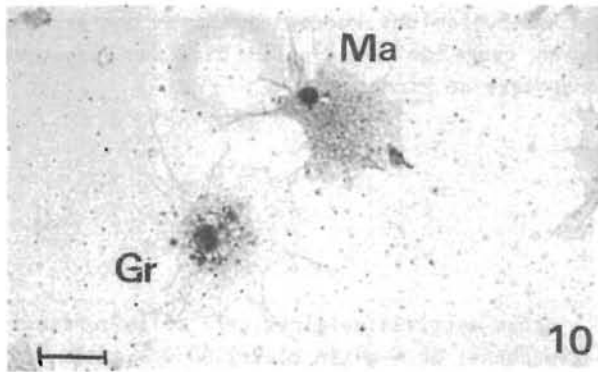
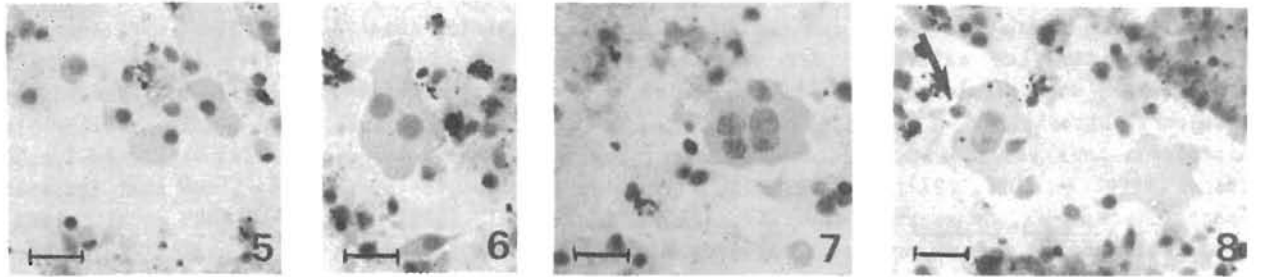
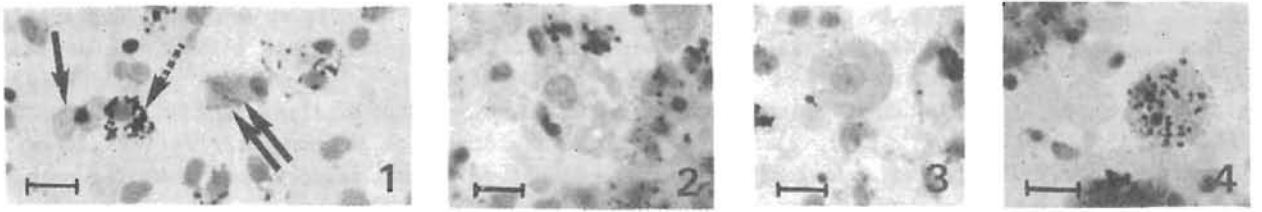
L'échelle représente 10 μ m sur la planche I et 1 μ m sur les planches II, III, IV.

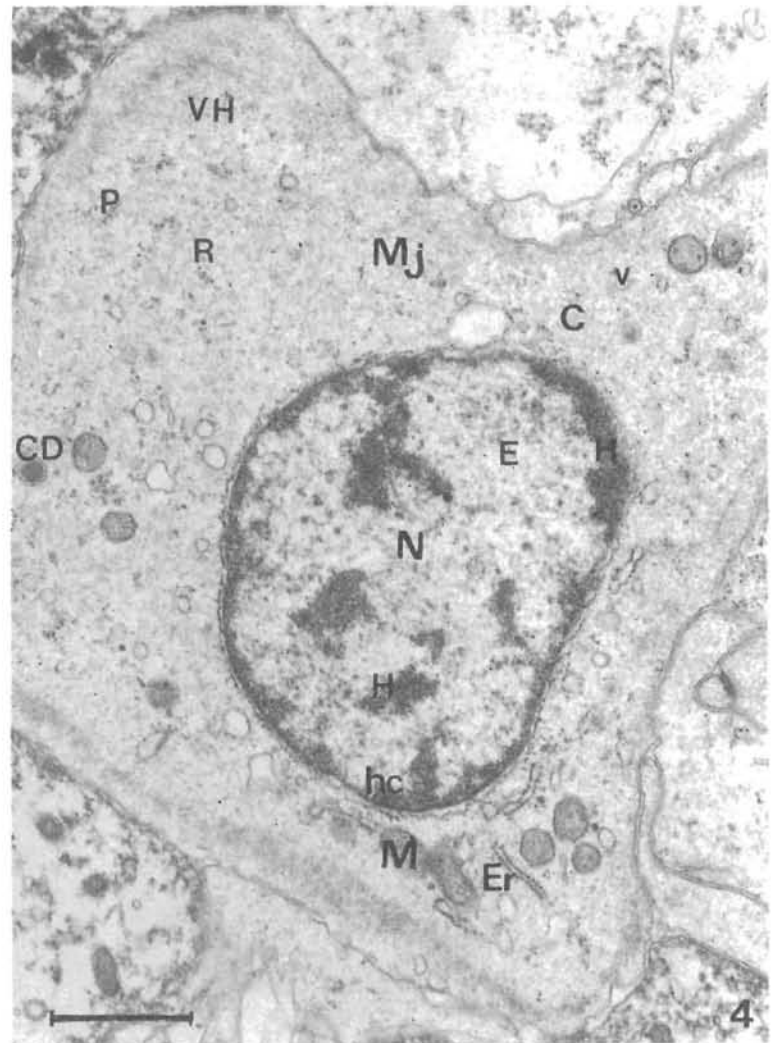
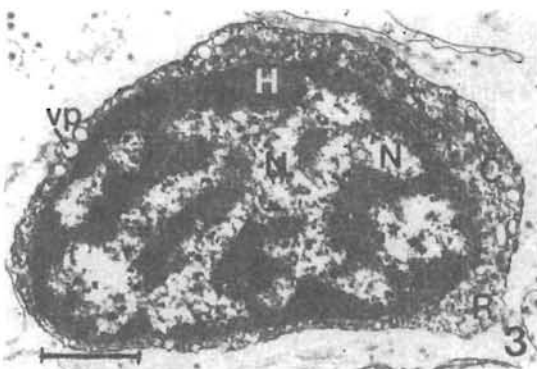
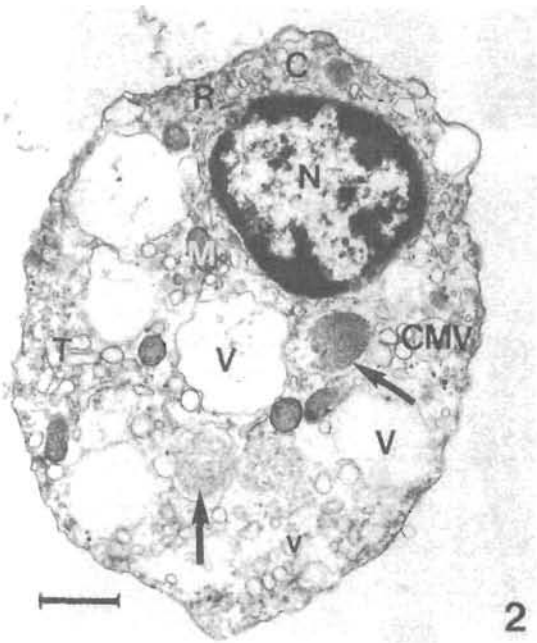
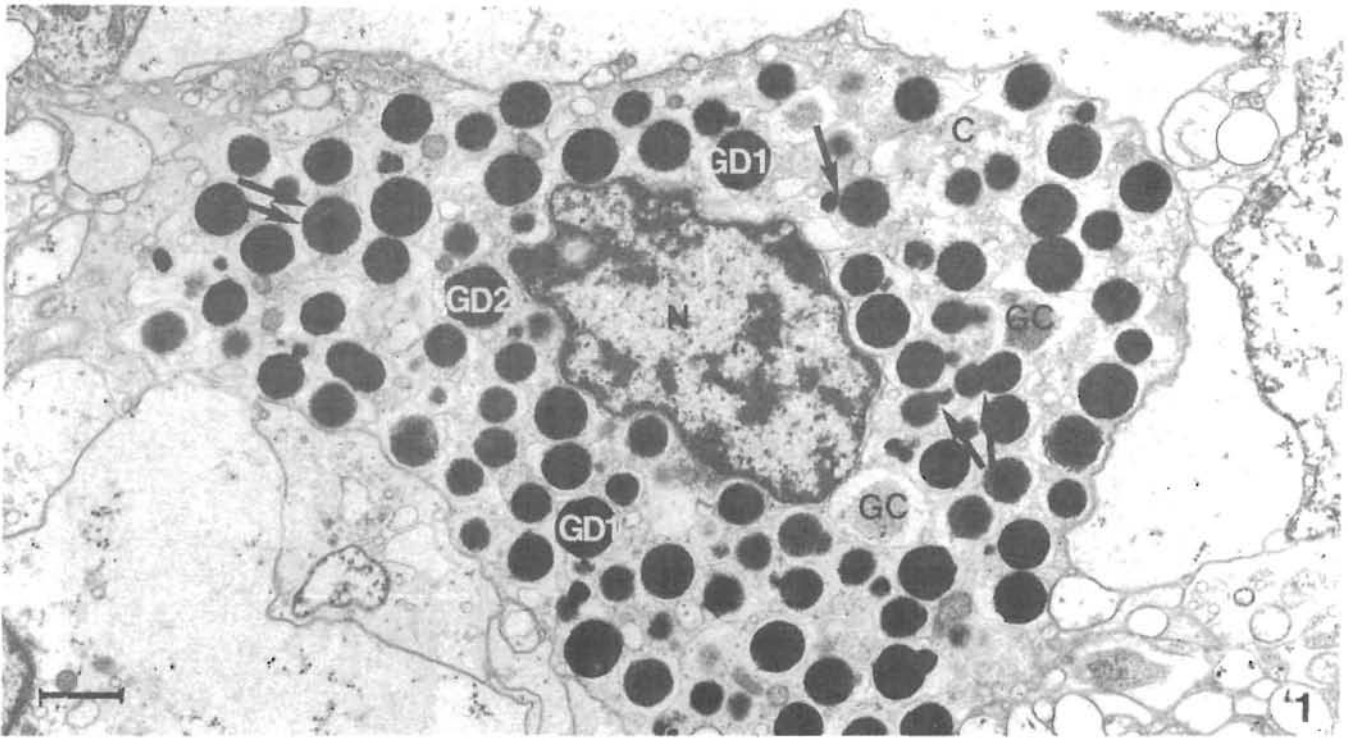
Pl. I : Figs 1 à 8 : frottis d'hémolymphe de Pinna (May Grünwald Giemsa). Fig. 1 : granulocytes éosinophile (flèche), basophile (flèche pointillée), neutrophile (flèche double). Fig. 2 : granulocyte dégranulé. Fig. 3 : macrophage jeune. Fig. 4 : macrophage âgé. Fig. 5 : hyalinocytes. Fig. 6 : hyalinocyte binucléé. Fig. 7 : plasmode. Fig. 8 : hyalinocyte géant phagocytant une cellule lysée (flèche). Figs. 9 à 13 : hémocytes en survie 15 mn. (fig. 9), 30 mn. (fig. 10), 1 h. (figs 11 et 12), 2 h. (fig. 13). (Col. Bleu Azur).

IFFREMER-SDP
Centre de BREST
Bibliothèque

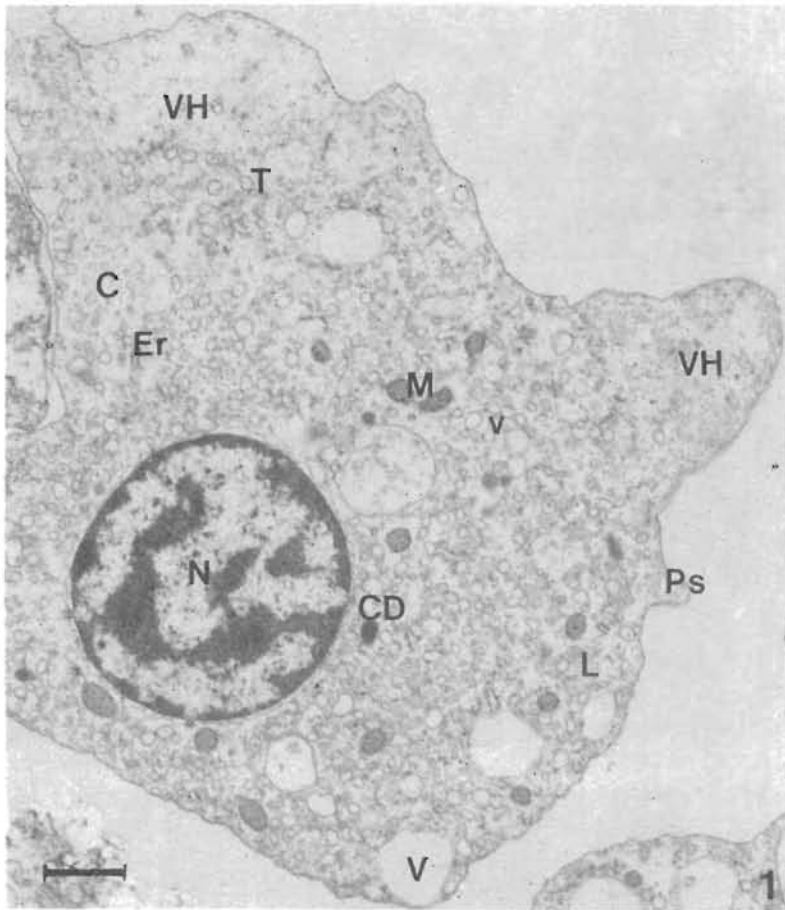
B.P. 70-29280 PLOUZANE

PLANCHE I

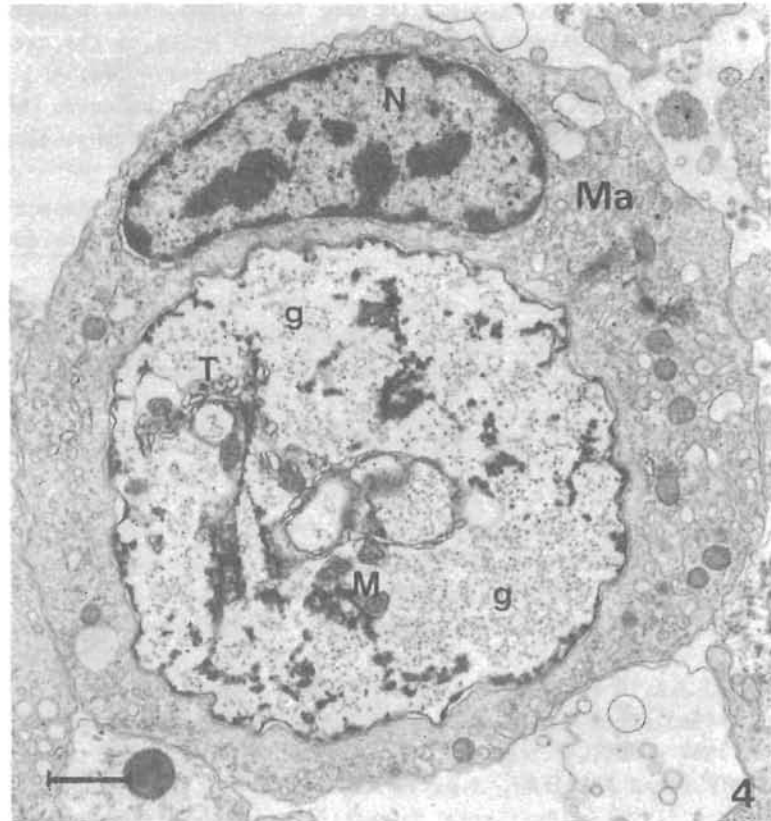
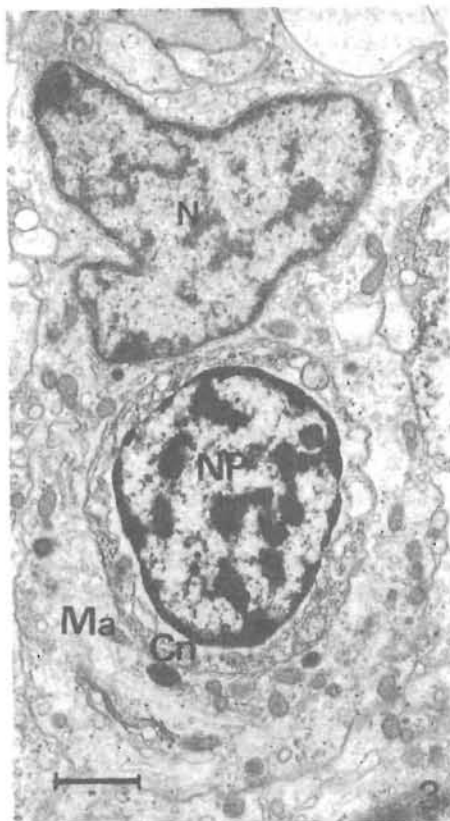
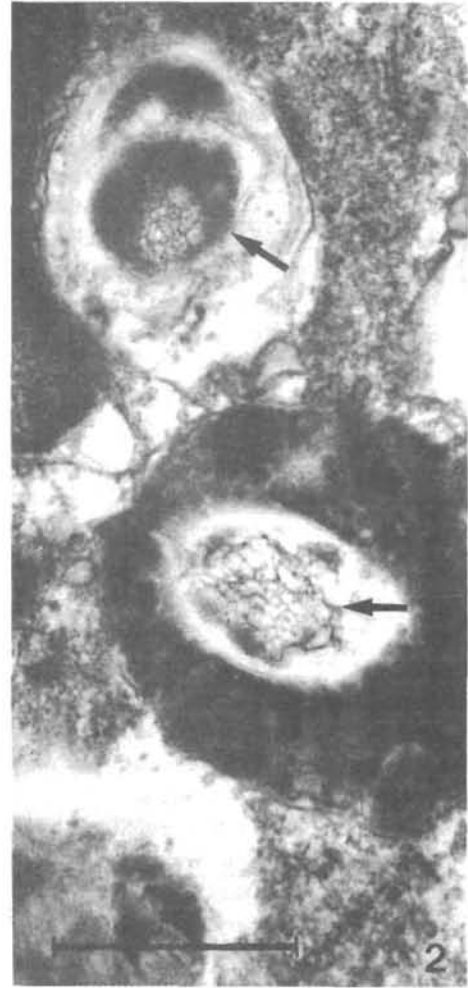
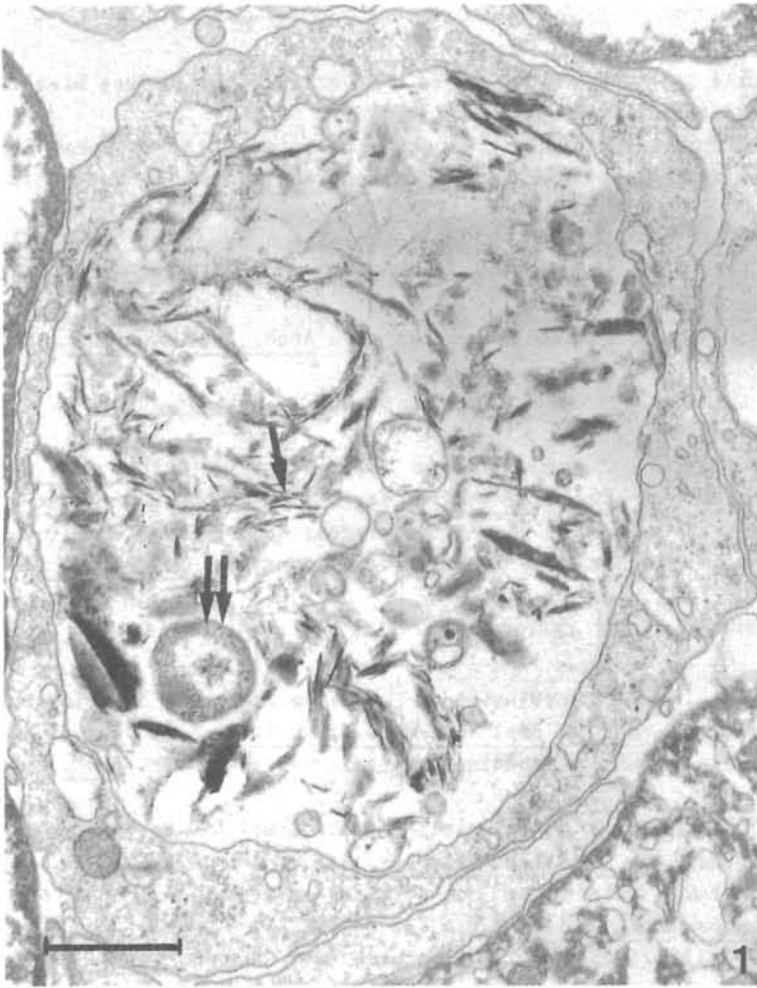




Pl. II : Fig. 1 : granulocyte ; Fig. 2 : granulocyte dégranulé ; Fig. 3 : petit hyalinocyte ; Fig. 4 : macrophage jeune.



Pl. III : Fig. 1 : hyalinocyte à réticulum lisse ; Fig. 2 : Macrophage mOr; Fig. 3 : Macrophage à volumineux lysosomes.



Pl. IV : Fig. 1 : accumulation de métaux (flèche) et bactéries (flèche double) dans les lysosomes de macrophages. Fig. 2 : bactéries (flèche) dégradées dans les lysosomes. Fig. 3 : Phagocytose de cellule nécrosée dans un macrophage. Fig. 4 : accumulation de glycogène dans un macrophage.

- AUFFRET, M., 1985 - Morphologie comparative des types hémocytaires chez quelques mollusques bivalves d'intérêt commercial. Thèse Doct. 3ème cycle, U.B.O., Brest, 147 p.
- AUFFRET, M., 1989 - Comparative study of the hemocytes of two oyster species : the european flat oyster, Ostrea edulis, Linnaeus, 1750 and the pacific oyster, Crassostrea gigas, Thunberg, 1793. J. Shell fish. res., 8 : 367 - 373.
- BAYNE, C.J., MOORE, M.N., CAREFOOT, T.H. & THOMPSON, R.J., 1979. Hemolymph functions in Mytilus californianus : The cytochemistry of hemocytes and their responses to foreign implants and hemolymph factors in phagocytosis. J. Invertebr. Pathol. 34 : 1-20.
- BETANCES, L.M., 1921. Les cellules du sang de quelques lamellibranches. Arch. Anat. Microsc. 18 : 309-327.
- BUBEL, A., MOORE, M.N. & LOWE, D., 1977. Cellular responses to shell damage in Mytilus edulis L. J. Exp. Mar. Biol. ecol., 30 : 1-27.
- CHAGOT, D.J., 1989. Caractérisation morphologique et fonctionnelle des hémocytes d'Ostrea edulis et de Crassostrea gigas, mollusque bivalves. Etude in vitro de leurs interactions avec le protozoaire Bonamia ostreae (Acetospora). Dipl. Ec. Pr. Hautes Etudes; Montpellier, 72 p.
- CHENG, T.C., 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 266 : 343 - 379.
- CHENG, T.C., 1981. Bivalves, in Invertebrate blood cells; N.A. Ratcliffe & A. Rowley eds. Acad. Press, London, 233 - 300.
- COMBELLES, S, MORETEAU, J.C. et VICENTE, N., 1988. Contribution à la connaissance de l'écologie de Pinna nobilis L. (Mollusque Eulamellibranche). Sci. Rep. Port-Cros, Nat. Park, Fr., 12 : 29-43.
- CUENOT, L., 1891. Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dans la série animale. Arch. Zool. Exper., 9 : 13 - 90.
- FENG, S.Y., FENG, J.S., BURKE & KHAIRALLAH, 1971. Light and electron microscopy of the leucocyte of Crassostrea virginica (Mollusca-Pelecypod). Z. Zellforsch Mikrosk. Anat., 120 : 222-245.
- FISHER, W.S. & NEWELL, R.I.E., 1986. Salinity effects on the activity of granular hemocytes of american oysters, Crassostrea virginica. Biol. Bull., 170 : 122 - 134.
- FISHER, W.S., AUFFRET, M. & BALOUET, G., 1987. Responses of European Flat Oyster (Ostrea edulis) hemocytes to acute salinity and temperature changes. Aquaculture, 67 : 179 - 190.
- GEORGE, S.C., PIRIE, B.J.S., CHEYNE, T.L. COMBS, T.L. & GRANT, P.T., 1978. Detoxication of metals by marine bivalves : An ultrastructural study of the compartimentation of copper and zinc in the oyster Ostrea edulis. Mar. Biol., 45 : 147 - 156.
- HENRY, M., 1987. La glande digestive de la palourde méditerranéenne Ruditapes decussatus L. Recherches ultrastructurales, cytochimiques, écophysiologicals et écotoxicologiques. Thèse Doct. es Sci., Univ. Aix-Marseille III, 439 p.
- HENRY, M., AUFFRET, M. & BOUCAUD-CAMOU, E., 1989. Aspects ultrastructuraux et fonctionnels des hémocytes de quatre familles de bivalves (Ostreidae, Veneridae, Mytilidae, Pectinidae). Haliotis, in press.
- HOUACHE, N., 1990. Etude comparative des hémocytes de trois familles de mollusques bivalves marins (Pinnidae, Veneridae, Pectinidae). D.E.A. Environnement Marin. Univ. Aix-Marseille III, 43 p.
- LUFT, J.M., 1961. Improvement in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. and Biochem. Cytol., 9 : 409 - 414.
- MOORE M.N. & LOWE, D., 1977. The cytology of Mytilus edulis and their responses to experimentaly injected carbon particule. J. Invertebr. Pathol., 29 : 18 - 30.
- MOORE C.A. & GELDER S.R., 1985. Demonstration of lysosomal enzymes in hemocytes of Mercenaria mercenaria (Mollusca Bivalvia). Trans. Amer. Microsc. Soc., 104 : 242 - 249.
- ROITT, I., BROSTOFF, J., & MALE, D., 1985. Immunologie fondamentale et appliquée. MEDSI, 197 p.
- RUDEL, C.L., 1971. Elucidation of the nature and function of the granular oyster amoebocytes through histochemical studies of normal and traumatized oyster tissues. Histochem., 26 : 98 - 112.
- THOMAS, J.A. & VILAIN, C., 1971. Jonctions membranaires et fusions des histiocytes alvéolaires, après stimulation par le BCG : l'édification des plasmodes géants, in vitro. C.R. Acad. Sc., 273 : 2564 - 2567.
- VICENTE, N., MORETEAU, J.C. et ESCOUBET, P., 1980. Etude de l'évolution d'une population de Pinna nobilis L. (Mollusque Eulamellibranche) au large de l'anse de la Palud (Parc National de Port-Cros). Trav.Sci.Nation.Port-Cros, 6 : 39-68.