

Les
publications
de la Direction de l'innovation
et des technologies

Rapport de recherche-développement

N° 188

Revue de littérature et fiches
descriptives des différents indicateurs
de stress et de vitalité utilisés pour
caractériser les mollusques bivalves

Rachel Picard
Réjean Tremblay
Bruno Myrand

**Revue de littérature et fiches
descriptives des différents
indicateurs de stress et de
vitalité utilisés pour
caractériser les mollusques
bivalves**

Rapport de recherche-
développement n° 188

Rachel Picard
Réjean Tremblay
Bruno Myrand

Réalisation

Julie Rousseau, responsable du bureau d'édition

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
Bureau d'édition - DIT
96, montée de Sandy Beach, bureau 2.05
Gaspé (Québec) G4X 2V6

Pour une version gratuite (fichier pdf) de ce document, visitez notre site Internet à l'adresse suivante :
<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Peche/md/Publications/> ou écrire à l'adresse de courriel ci-dessus.

ISBN (version imprimée) : 978-2-550-60007-7
ISBN (version PDF) : 978-2-550-60008-4

Dépôt légal – Bibliothèque et archives nationales du Québec, 2010

Revue de littérature et fiches descriptives des différents indicateurs de stress et de vitalité utilisés pour caractériser les mollusques bivalves

Rachel Picard¹, Réjean Tremblay¹, Bruno Myrand²

1 Institut des sciences de la mer de Rimouski, Université du Québec à Rimouski, 310 allée des Ursulines, Rimouski, Québec, G5L 3A1

2 Centre maricole des Îles-de-la-Madeleine, 125 chemin du Parc, Cap-aux-Meules, Québec, G4T 1B3. Actuellement, Merinov.

On doit citer ce document comme suit : PICARD, Rachel, Réjean TREMBLAY, Bruno MYRAND. 2010. *Revue de littérature et fiches descriptives des différents indicateurs de stress de vitalité utilisés pour caractériser les mollusques bivalves*. Les Publications de la Direction de l'innovation et des technologies. Rapport de R-D n° 188. 26 pages.

Résumé

Le développement d'indices de vitalité et de stress chez les mollusques bivalves en élevage est d'une grande importance pour les conchyliculteurs afin d'avoir en main des outils efficaces leur permettant de minimiser les mortalités et les faibles croissances, et ainsi d'optimiser leur productivité. Une panoplie d'indices de vitalité pour les bivalves sont décrits et utilisés dans la littérature scientifique. Ils sont utilisés avec différentes espèces et dans des conditions variées. Ils caractérisent divers niveaux d'intégration : population, individu, tissus ou organes, cellules et molécules. Neuf grands groupes d'indicateurs font l'objet d'une revue de littérature : (1) métallothionéines (MT), (2) les protéines de choc thermique (HSP), (3) biomarqueurs du stress oxydant, (4) biomarqueurs de génotoxicité, (5) charge énergétique en adénylates (CEA), (6) marqueurs immunologiques, (7) réserves énergétiques, (8) caractéristiques physiologiques de base, et (9) marqueurs comportementaux. Les informations fournies indiquent les espèces étudiées, les méthodes d'analyse utilisées, quelques résultats obtenus ainsi que les qualités/inconvénients des tests.

Il n'existe pas d'indice de vitalité universel malgré la panoplie existante. Ainsi, il est sans doute préférable de se référer à une batterie d'indicateurs situés à différents niveaux d'organisation et réalisés sur des effectifs importants pour améliorer la sensibilité, parfois au détriment de la rapidité. Cette mesure de plusieurs indices demande un long temps de réponse ce qui les rend moins attrayants dans le cadre des opérations maricoles courantes. De nombreux facteurs peuvent faire varier l'intensité de réponses des différents indicateurs comme l'espèce, l'âge, le sexe, l'état reproducteur, les caractéristiques génétiques et le stock d'origine. Il est donc extrêmement important de bien connaître l'espèce visée, en conditions normales (sans stress) et les variations liées aux cycles biologiques des organismes étudiés. La plupart des biomarqueurs proposés dans la littérature sont le fruit de recherches fondamentales qui nécessitent l'utilisation de matériel sophistiqué et la mise en œuvre de protocoles lourds, difficiles à réaliser *in situ* et nécessitant beaucoup d'expertise et d'argent. Ces indices sont donc très peu utilisés en aquaculture. Les indices

portant sur des fonctions générales de l'organisme comme les tests de comportement ou physiologiques prennent en compte une grande part de l'état physiologique des animaux. Ce sont des indices plus globaux qui sont donc avantageux puisqu'ils permettent de déterminer une vitalité au plus large spectre d'aptitudes possibles au détriment, par contre, d'une compréhension fine des facteurs de stress et de leurs effets sur l'organisme.

Abstract

The development of vitality and stress indices for farmed bivalve molluscs is of great importance to shellfish producers; it gives them effective tools that allow them to keep mortality and weak growth to a minimum and thus, optimise productivity. A host of vitality indices for bivalves have been used and are described in scientific literature. They are used for different species and in various conditions. They characterise different levels of integration: population, individuals, tissues or organs, cells and molecules. The literature was reviewed in order to examine nine broad groups of indicators: (1) metallothioneins (MT), (2) heat-shock proteins (HSP), (3) oxidative stress biomarkers, (4) genotoxicity biomarkers, (5) adenylate energy charge (AEC), (6) immunological markers, (7) energy reserves, (8) basic physiological characteristics, and (9) behavioural markers. The information provided includes details regarding the species studied, the analysis methods used, a few results obtained and the qualities/drawbacks of the tests.

Despite the myriad indices that exist, there is no universal marker for vitality. Thus, it is inarguably better to refer to a series of indicators for various organisation levels and use them to examine large numbers of individuals to improve the

Mots clés : bivalve, indicateurs, stress, vitalité

Key Words : bivalves, indicators, stress, vitality

sensitivity of testing, sometimes to the detriment of rapidity. Such measurement of several indices calls for a long response time which makes them less attractive in the context of usual mariculture operations. Numerous factors—species, age, sex, reproductive state, genetic characteristics and initial stock—can cause the response intensity of the different indicators to vary. It is, therefore, of the utmost importance to be fully familiar with the targeted species under normal conditions (stress-free) and the variations associated with the biological cycles of the organisms being studied. Most of the biomarkers proposed in the literature are the outcome of fundamental research that requires the use of sophisticated material and the implementation of stringent protocols that are hard to perform *in situ* and require a great deal of expertise and money. Consequently, these indices are used very little in aquaculture. The indices dealing with the general functions of the organism—which can be determined using behavioural or physiological tests—take into account much of the animal's physiological condition. Thus, it is the more comprehensive indices that are the most advantageous since they allow users at the broadest possible spectrum of aptitudes to determine vitality, albeit to the detriment of gaining a fine understanding of stress factors and their effects on the organism.

Table des matières

1. Introduction.....	1
2. Les métallothionéines (MT)	2
2.1 Introduction	2
2.2 Bivalves étudiés	2
2.3 Quelques méthodes d'analyse	2
2.4 Quelques résultats obtenus	2
2.5 Qualités/inconvénients du test.....	2
3. Protéines de choc thermique (hsp).....	3
3.1 Introduction	3
3.2 Bivalves étudiés.....	3
3.3 Quelques méthodes d'analyse	3
3.4 Quelques résultats obtenus	3
3.5 Qualités/inconvénients du test.....	3
4. Introduction.....	3
4.1 Introduction	3
4.2 Bivalves étudiés.....	4
4.3 Quelques méthodes d'analyse	4
4.4 Quelques résultats obtenus	5
4.5 Qualités/inconvénients du test.....	5
5. Biomarqueurs de génotoxicité.....	6
5.1 Introduction	6
5.2 Bivalves étudiés.....	6
5.3 Quelques méthodes d'analyse	6
5.4 Quelques résultats obtenus	6
5.5 Qualités/inconvénients du test.....	6
6. Charge énergétique en adénylates (CEA).....	7
6.1 Introduction	7
6.2 Bivalves étudiés.....	7
6.3 Quelques méthodes d'analyse	7
6.4 Quelques résultats obtenus	7
6.5 Qualités/inconvénients du test.....	8
7. Marqueurs immunologiques	8
7.1 Introduction	8
7.2 Bivalves étudiés.....	8
7.3 Quelques méthodes d'analyse	9
7.4 Quelques résultats obtenus	10
7.5 Qualités/inconvénients du test.....	11
8. Réserves énergétiques.....	11
8.1 Introduction	11
8.2 Bivalves étudiés.....	11
8.3 Quelques méthodes d'analyse	11
8.4 Quelques résultats obtenus	11
8.5 Qualités/inconvénients du test.....	12

9. Caractéristiques physiologiques de base	12
9.1 Introduction	12
9.2 Bivalves étudiés	13
9.3 Quelques méthodes d'analyse	14
9.4 Quelques résultats obtenus	14
9.5 Qualités/inconvénients du test	15
10. Marqueurs comportementaux	15
10.1 Introduction	15
10.2 Bivalves étudiés	15
10.3 Quelques méthodes d'analyse	16
10.4 Quelques résultats obtenus	17
10.5 Qualités/inconvénients du test	17
11. Conclusion	17
Références	18

Liste des tableaux

Tableau 1. Métallothionéines	2
Tableau 2. Protéines de choc thermique étudiées chez différents bivalves	3
Tableau 3. Antioxydants et effets d'un choc oxydant étudiés chez différents bivalves	4
Tableau 4. Méthodes d'analyse pour la détection de l'activation des systèmes antioxydants	5
Tableau 5. Altérations de l'ADN utilisé comme indicateur de génotoxicité chez différents bivalves	6
Tableau 6. Études portant sur la charge énergétique en adénylates chez différents bivalves	7
Tableau 7. Indicateurs immunologiques étudiés chez quelques espèces de bivalves	8
Tableau 8. Quelques études des réserves énergétiques chez certains bivalves	12
Tableau 9. Caractéristiques physiologiques de base comme indicateurs chez quelques bivalves	13
Tableau 10. Indicateurs comportementaux étudiés chez quelques bivalves	15

Revue de littérature et fiches descriptives des différents indicateurs de stress et de vitalité utilisés pour caractériser les mollusque bivalves

1. Introduction

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

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

Les notions de vitalité et de stress sont utilisées dans plusieurs contextes, non seulement dans les travaux avec les mollusques bivalves, mais aussi avec les autres organismes. Bien que reliées, il importe tout d'abord de définir ce que sont ces notions ,dans le cadre de cette revue de littérature. La

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

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

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

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

Le présent document est la compilation d'informations pertinentes, mais non exhaustives, sur plusieurs indices de vitalité utilisés avec les bivalves. Il se veut un élément de référence pour mieux comprendre leurs caractéristiques et leurs conditions d'utilisation.

2. Les métallothionéines (MT)

2.1. Introduction

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

2.2 Bivalves étudiés

Tableau 1 : Métallothionéines étudiées chez certaines espèces

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

2.3 Quelques méthodes d'analyse

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

2.4 Quelques résultats obtenus

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

L'accumulation de cadmium dans les tissus mous chez *Ruditapes decussatus* est linéaire avec le temps. Ce métal est surtout accumulé dans le cytosol et est associé à des métallothionéines. Chez les individus exposés à 400 µg/l de cadmium,

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

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

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

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

2.5 Qualités/inconvénients du test

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

3. Protéines de choc thermique (hsp)

3.1 Introduction

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

3.2 Bivalves étudiés

Tableau 2 : Protéines de choc thermique étudiées chez différents bivalves

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

3.3 Quelques méthodes d'analyse

Il existe plusieurs méthodes d'analyse des HSP : le marquage métabolique suivi d'une électrophorèse et d'une autoradiographie (Ruffin *et al.*, 1994), l'utilisation d'anticorps spécifiques

(Bradley et Ward, 1989; Miller *et al.*, 1990; Cochrane *et al.*, 1991; Sanders et Martin, 1993; Sanders *et al.*, 1994b) et l'hybridation avec des sondes d'ADN complémentaires et PCR (Cochrane *et al.*, 1991).

3.4 Quelques résultats obtenus

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

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

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

3.5 Qualités/inconvénients du test

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

4. Biomarqueurs du stress oxydant

4.1 Introduction

La formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) découle de réactions métaboliques et de la production énergétique. Ces espèces réactives sont l'oxygène singulet (1O_2), l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^\bullet) et les hydroperoxy radicaux. Ces ROS peuvent créer un stress oxydant lorsqu'il y a insuffisance ou dysfonctionnement des systèmes de défense et de contrôle de l'organisme pour combattre leur surproduction. Ainsi, c'est le déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants qui mène à une agression toxique (Cossu *et al.*, 1997ab). Les ROS peuvent attaquer les protéines, les lipides, les glucides et les acides

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

Indicateurs	Espèces	Agent stressant	Références
Catalase	<i>Mytilus edulis</i>	Température Exposition à l'air Saisons et sites	Pellerin-Massicotte, 1997 Leiniö et Lehtonen, 2005 Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mya arenaria</i>	Température	Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Malondialdéhyde (MDA)	<i>Mytilus edulis</i>	Température Exposition à l'air	Pellerin-Massicotte, 1997
	<i>Mya arenaria</i>	Température	Abele <i>et al.</i> , 2002
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 1997
Peroxydation des lipides	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Viarengo <i>et al.</i> , 1991b
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathion	<i>Mytilus edulis</i>	Température Exposition à l'air	Pellerin-Massicotte, 1997
	<i>Unio tumidus</i>	Cuivre et thiram	Doyotte <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathione-S-transérase (GST)	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et sites Saisons, contaminants	Leiniö et Lehtonen, 2005 Manduzio <i>et al.</i> 2004
	<i>Macoma balthica</i>	Saisons et sites	Leiniö et Lehtonen, 2005
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005
Glutathione peroxydase	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons, contaminants	Manduzio <i>et al.</i> 2004
	<i>Ruditapes decussatus</i>	Cadmium	Geret <i>et al.</i> , 1997
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Acide abiétique et acide déshydroabiétique	Gravato <i>et al.</i> , 2005

Suite

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

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

nucléiques et entraîner ainsi une destruction et un dysfonctionnement de leurs fonctions. Ils peuvent en plus entraîner une nécrose et une cancérisation des tissus ou encore un vieillissement prématuré (Cossu *et al.*, 1997b). Les ROS ont des rayons de diffusion dans l'organisme plus ou moins étendus selon leur stabilité et leur réactivité. Les mécanismes d'actions antioxydantes agissent pour éliminer ces espèces réactives ainsi que leurs catalyseurs, induire la synthèse des antioxydants et augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées (Cossu *et al.*, 1997b). Il existe trois types majeurs d'enzymes antioxydantes ayant le pouvoir de détruire les ROS : les superoxydes dismutases (SOD), les peroxydases et les catalases. Il existe aussi des antioxydants non enzymatiques comme le glutathion (GSH), l'acide lipoïque, la vitamine E, la vitamine A et l'ubiquinol. La détection de ces antioxydants enzymatiques ou non ainsi que des conséquences d'un choc oxydant sont des indicateurs étudiés par plusieurs chercheurs.

4.2 Bivalves étudiés

Voir tableau 3.

4.3 Quelques méthodes d'analyse

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

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

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

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

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

4.4 Quelques résultats obtenus

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

Il y a une augmentation des teneurs en MDA dans la glande digestive de *M. edulis* lors d'une augmentation de la température ou d'une émergence. Ces concentrations sont corrélées négativement avec une diminution du glycogène et avec le stress physiologique occasionné par les pontes successives (Pellerin-Massicote, 1997). Dans les sites où les moules sont submergées en permanence, la production de MDA et la

catalase sont induites par les conditions environnementales sévères (action des vagues dues à des vents violents).

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

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

4.5 Qualités/inconvénients du test

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

raison, un second type d'activité sera mis en branle et prendra la relève pour maintenir le métabolisme. Aussi, cette activité peut résulter d'un phénomène physiologique normal (reproduction) ou de facteurs environnementaux naturels. Ainsi, l'utilisation d'indicateurs antioxydants nécessite une très bonne connaissance des variations normales chez l'espèce étudiée.

5. Biomarqueurs de génotoxicité

5.1 Introduction

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

5.2 Bivalves étudiés

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

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

5.3 Méthodes d'analyse

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

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

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

La dissymétrie fluctuante (DF) (fluctuating asymmetry) correspond aux variations morphologiques aléatoires de part et d'autre du plan de symétrie d'un organisme selon des influences génétiques et environnementales. C'est un outil largement utilisé en recherche. En l'absence de toute perturbation de l'expression du génome, les traits phénotypiques devraient être sensiblement identiques de part et d'autre d'un plan de symétrie. Ainsi, la DF est l'expression morphologique des perturbations de l'expression des gènes suite à l'exposition à un agent génotoxique. La dissymétrie dysfonctionnelle se manifeste en trois types : centrée, directionnelle ou asymétrique (Moller, 1997). Fréchette *et al.* (2003) ont estimé la DF de l'huître creuse avec la formule suivante :

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

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

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

5.4 Quelques résultats obtenus

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

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

5.5 Qualités/inconvénients du test

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

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

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

6. Charge énergétique en adénylates (CEA)

6.1 Introduction

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

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

Lorsqu'il y a équilibre entre la dégradation et la régénération de l'ATP, donc en conditions optimales, la CEA a une valeur d'environ 0,80 (Atkinson, 1968). Les valeurs comprises entre 0,50 et 0,75 témoignent d'individus stressés ou qui sont dans un état physiologique suboptimal (croissance limitée, diminution du potentiel reproducteur, etc.) (Maguire, 2003). Les valeurs inférieures à 0,50 rendent compte d'un état de stress sévère caractérisé par des cellules moribondes qui ne pourront ni survivre ni récupérer même avec un retour aux conditions optimales (Ivanovici, 1979).

6.2 Bivalves étudiés

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

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

6.3 Méthodes d'analyse

La détermination de la CEA nécessite le dosage des concentrations en AMP, ADP et ATP qui s'effectue par chromatographie liquide à haute performance (CHPL) sur colonne en phase inverse et selon un mode d'élution isocratique (Moal *et al.*, 1989). L'addition d'un contre-ion (tetrabutylammonium hydroxyde) dans la phase aqueuse mobile, tampon phosphate, pH6, permet une séparation en fonction de la composition de la base (purique ou pyrimidique) et du nombre de groupements phosphates. Une deuxième technique utilisée est celle de la méthode luciférine/luciférase mise au point par Klinken et Skjoldal (1983).

6.4 Quelques résultats obtenus

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

Rainer *et al.* (1979) ont trouvé une diminution de la CEA dans le muscle adducteur de trois mollusques lors d'une baisse de la salinité. La température semble aussi jouer un rôle dans la valeur de la CEA selon des études menées chez les poissons (John et Pechnik, 1980; Haya et Waiwood, 1983). Le pH a aussi une influence sur les valeurs de CEA chez certaines espèces de poissons et de mollusques gastéropodes (McFarlane, 1981; Combs et Ellington, 1995). De faibles concentrations en oxygène peuvent faire diminuer la CEA, comme l'a démontré Wisjman (1976ab) chez *Mytilus edulis*. Les métaux ont aussi des effets en diminuant la CEA chez certaines espèces (Giesy *et al.*, 1978; Buu et Le Gal, 1989), tandis que pour d'autres, la CEA reste stable, bien que les différentes composantes varient (Haya *et al.*, 1980; Zarogian *et al.*, 1982; Haya *et al.*, 1983).

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

6.5 Qualités/inconvénients du test

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

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

7. Marqueurs immunologiques

7.1 Introduction

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

7.2 Bivalves étudiés

Tableau 7 : Indicateurs immunologiques étudiés chez quelques espèces de bivalves

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

Suite Tableau 7 : Indicateurs immunologiques étudiés chez quelques espèces de bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressants	Références
Pourcentage, taille et granularité de quatre types d'hémocytes	<i>Crasostrea virginica</i>	Alimentation (quantité et qualité) et augmentation rapide de la température	Hégaret <i>et al.</i> , 2004
Activité antibactérienne	<i>Crasostrea gigas</i>	Pathogènes et reproduction	Samain <i>et al.</i> , 2007 Li <i>et al.</i> , 2007
Activité phagocytaire	<i>Chamelea gallina</i>	Pêche commerciale (dragage, pression, tri mécanique)	Ballarin <i>et al.</i> , 2003
		<i>Mya arenaria</i>	Contaminants environnementaux
	<i>Elliptio complanata</i>	Sédiments marins contaminés (BPC, HAP)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Eau contaminée (HgCl ₂ et CH ₃ HgCl)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
		Substances chimiques	Fournier <i>et al.</i> , 2000
		Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
		Contaminants	Blaise <i>et al.</i> , 2002a
		Alimentation (quantité et qualité)	Hégaret <i>et al.</i> , 2004
	<i>Crasostrea virginica</i>	Composé métallique	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
		Bactéries	Volety <i>et al.</i> , 1999
	<i>Mactromeris</i>	Choc osmotique	Tirard <i>et al.</i> , 1997
		TBT	Oliver <i>et al.</i> , 1995
		Sédiments marins contaminés (BPC, HAP)	Fournier <i>et al.</i> , 2003
<i>Mytilus edulis</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002	
	Eau contaminée (HgC ₂ et CH ₃ HgCl)	Fournier <i>et al.</i> , 2003	
<i>Crasostrea gigas</i>	Substances chimiques	Fournier <i>et al.</i> , 2000	
	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002	
	Antigènes	Lacoste <i>et al.</i> , 2002	
		Reproduction	Samain <i>et al.</i> , 2007

Indicateurs	Espèces	Agents stressants	Références
	<i>Ruditapes philippinarum</i>	Bactéries, jeûne	Oubella <i>et al.</i> , 1993
	<i>Mesosdesma arctatum</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Cyrtodaria siliqua</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Mya truncata</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Serripes groenlandicus</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002
	<i>Dreissena polymorpha</i>	Composés métalliques	Sauvé <i>et al.</i> , 2002

7.3 Méthodes d'analyse

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

L'activité de la phagocytose est déterminée grâce à un indice basé sur le pourcentage de cellules colorées avec une solution Giemsa qui ont ingéré de la levure après une période d'incubation donnée (Ballarin *et al.*, 2003). Une autre façon de déterminer l'activité phagocytaire repose sur l'utilisation de la fluorescence sur microplaques qui mesure le nombre de bactéries marquées à la fluorescine-isocyanate au bleu de trypan (Hed, 1995) et ingérées par les hémocytes en microplaques (Blaise *et al.*, 2002a). Il est également possible de mesurer l'activité phagocytaire par la phagocytose de billes fluorescentes ou des fluosphères de latex jaune-vert à l'aide d'un cytomètre en flux (Fournier *et al.*, 2000, 2003; Sauvé *et al.*, 2002).

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

La stabilité des lysosomes est déterminée à l'aide d'un marqueur enzymatique selon la méthode de Bitensky *et al.* (1973) et Moore (1988) et la mesure des différents niveaux de réaction sont obtenues à l'aide d'un analyseur d'images (Tremblay et Pellerin-Massicotte, 1997; Tremblay *et al.*,

1998a; Kagley *et al.*, 2003). La stabilité des lysosomes peut aussi être déterminée par l'analyse de la rétention du rouge neutre selon la méthode décrite par Lowe *et al.* (1995a, b) modifiée légèrement par Harding *et al.* (2004). De leur côté, Hole *et al.* (1995) ont déterminé la stabilité des lysosomes chez les moules selon la méthode de la latence cytochimique du β -N-acetylhexosaminidase (NAH) telle que décrite par Moore (1988).

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

7.4 Quelques résultats obtenus

L'augmentation du nombre d'hémocytes en circulation a été observée lors d'un stress thermique, d'une exposition à un pathogène ou encore à des substances toxiques (Renwrantz, 1990; Cheng, 1988a; Anderson *et al.*, 1992; Oubella *et al.* 1993; Coles *et al.*, 1994). Une diminution du nombre d'hémocytes a été observée lors d'une exposition à des concentrations très élevées de contaminants (Suresh et Mohandas, 1990). Il y a réduction du nombre de grands hémocytes et une augmentation du nombre de petits hémocytes chez des huîtres *Crassostrea virginica* transférées d'un site non pollué à un site pollué (Sami *et al.*, 1992). L'activité phagocytaire diminue chez *Mercenaria mercenaria* lors d'une exposition au phénol (Fries et Tripp, 1980), mais augmente lors d'une exposition à long terme au benzo(a)pyrène, au pentachlorophénol et à l'hexachlorobenzène (Anderson, 1981). L'exposition de *M. edulis* et *C. virginica* aux métaux lourds stimule la phagocytose lors d'une exposition de courte durée et à faibles concentrations (Cheng et Sullivan, 1984; Cheng, 1988, Coles *et al.*, 1995), mais inhibe la phagocytose lors d'une exposition plus longue à des concentrations plus élevées (Fries et Tripp, 1980; Cheng et Sullivan, 1984; Cheng, 1988; Coles *et al.*, 1995). L'exposition à des concentrations très élevées de métaux lourds entraîne une inhibition de la production de radicaux libres de l'oxygène par les hémocytes (Larson *et al.*, 1989; Anderson *et al.*, 1992), mais l'exposition aux concentrations rencontrées normalement dans l'environnement n'a pas d'effet (Anderson *et al.*, 1992; Coles *et al.*, 1995). Chez *M. edulis*, la production du radical superoxyde est stimulée par la présence de fluoranthène à de fortes concentrations (Coles *et al.*, 1994). L'activité de la NADPH-ferrihémoprotéine a été observée dans les cellules de la glande digestive des moules bleues recueillies dans un site contaminé, mais pas dans celles provenant d'un site non contaminé. Par contre, la saison ne semble pas influencer cette activité (Kagley *et al.*, 2003).

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

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

Ballarin *et al.* (2003) ont observé une réduction de l'immunosurveillance causée par une baisse de l'activité phagocytaire et de l'acide phosphatase ainsi qu'une diminution de la concentration des hémocytes en circulation en relation avec une augmentation de l'intensité d'un facteur de stress mécanique lié à des manipulations. Le nombre total et la taille des hémocytes varient en fonction des saisons (Soudant *et al.*, 2004). De plus, l'augmentation de la concentration d'hémocytes de grande taille est accompagnée d'une diminution du nombre total d'hémocytes, ce qui suggère une réduction de la division cellulaire (Soudant *et al.* 2004). Chez l'huître, *C. gigas*, et la moule, *M. edulis*, la capacité immunitaire et l'activité antibactérienne étaient diminuées en fin de gamétogénèse et de ponte (Cartier *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2007; Samain *et al.*, 2007).

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

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

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

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

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

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

7.5 Qualités/inconvénients du test

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

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

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

Sensible aux polluants, aux substances chimiques et aux métaux (Fournier et al., 2000), la phagocytose semble être un indice prometteur comme biomarqueur (Bouchard et al., 1999; Brousseau et al., 2000; Fournier et al., 2002). De plus, c'est une fonction conservée et maintenue au cours du processus évolutif chez toutes les espèces (Fournier et al., 2000). Cette activité est facilement mesurée par des méthodes

standardisées chez une grande variété d'espèces (Brousseau et al., 1999). La stabilité lysozymale semble aussi présenter un avantage en tant que bio-indicateur puisque les lysosomes sont le site des premiers changements détectables suite à un événement stressant chez les organismes marins (Moore, 1985). On pourrait ainsi les qualifier d'indicateurs précoces.

8. RÉSERVES ÉNERGÉTIQUES

8.1 Introduction

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

8.2 Bivalves étudiés

Voir tableau 8 page suivante

8.3 Quelques méthodes d'analyse

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

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

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

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

8.4 Quelques résultats obtenus

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

Tableau 8 : Quelques études des réserves énergétiques chez certains bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Protéines	<i>Venerupis philippinarum</i>	Sites d'élevage et saisons	Soudant <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons	Bressan et Martin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons	Okumus et Stirling, 1998
		Qualité de la nourriture	Carier <i>et al.</i> 2004
	<i>Mytilus trossulus</i>	Qualité de la nourriture, température	Carier <i>et al.</i> 2004
	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> 2004
	<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996
Glucides	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saison	Bressan et Martin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saison	Okumus et Stirling, 1998
	<i>Mytilus trossulus</i>	Qualité de la nourriture, température	Carier <i>et al.</i> 2004
	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> 2004
	<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996
	<i>Crasostrea gigas</i>	Nourriture et température	Patrick <i>et al.</i> , 2006
Lipides	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saison	Bressan et Martin, 1985
		Habitat	Freites <i>et al.</i> , 2002a
	<i>Mytilus edulis</i>	Saison	Carier <i>et al.</i> 2004
	<i>Mytilus trossulus</i>	Qualité de la nourriture, température	Carier <i>et al.</i> 2004
	<i>Pecten maximus</i>	Ensemencement, taille et saison	Fleury <i>et al.</i> , 1996
Acides gras	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Habitats (dispo. de nourriture)	Freites <i>et al.</i> , 1996
	<i>Mercenaria mercenaria</i>	Température	Pernet <i>et al.</i> , 2006

Chez *M. galloprovincialis*, les glucides sont présents en concentrations maximales en été et minimales en hiver. Les protéines ont un patron plutôt irrégulier au fil des saisons. Les lipides sont les moins concentrés à la fin du printemps et en hiver, tandis que des concentrations maximales sont observées en début de printemps et en été (Bressan et Marin, 1985).

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

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

8.5 Qualités/inconvénients du test

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

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

9. Caractéristiques physiologiques de base

9.1 Introduction

Face à un agent stressant, certaines caractéristiques physiologiques peuvent être modifiées (croissance, taux de filtration, consommation d'oxygène, taux de respiration, excrétion, développement des gonades, etc.). L'indice de condition a aussi été mis au point dans le but de renseigner sur l'état de

l'individu, de la population ou de la communauté et d'identifier des anomalies de croissance et de reproduction. On retrouve aussi les indices hépatosomatiques et gonadosomatiques, le taux de remplissage de la coquille (*Flesh condition index*) (Lobel et Wright, 1982; Soto *et al.*, 1995), la taille de la coquille et le temps de survie à un facteur de stress (Eertman et DeZwann, 1994).

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

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

où A est l'énergie assimilée à partir de la nourriture, R est celle utilisée pour la respiration et E est celle perdue lors de l'excrétion. Lorsque P est positif, l'individu a de l'énergie pour investir dans sa reproduction et sa croissance, contrairement à un individu ayant un P négatif qui signifie qu'il doit utiliser ses réserves énergétiques pour le simple maintien de son métabolisme de base (Le Gal *et al.*, 1997).

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

9.2 Bivalves étudiés

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

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

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Indice de condition	<i>Venerupis philippinarum</i>	Saison et site d'élevage	Soudant <i>et al.</i> 2004
	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Saisons, cycle reproducteur	Bressan et Martin, 1985
	<i>Mytilus edulis</i>	Saison	Okums et Stirling, 1998
Taux de consommation d'oxygène	<i>Mytilus edulis</i>	Âge, hypoxie et hyperthermie	Hole <i>et al.</i> , 1995
		Âge, taille, salinité, température, émersion	Sukhotin <i>et al.</i> , 2003
		Nourriture, température, reproduction et génétique	Tremblay <i>et al.</i> 1998b
	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, température, zone intertiale	Bayne <i>et al.</i> 1976
	<i>Macoma balthica</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972
	<i>Mulinia lateralis</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972
	<i>Mya arenaria</i>	Taille, température	Kennedy et Mihursky, 1972
Taux de filtration	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, température, zone intertiale	Bayne <i>et al.</i> 1976
	<i>Mytilus edulis</i>	vitesse du courant et concentration en seston	Newell <i>et al.</i> , 2001
	<i>Mytilus</i> spp.	Température	Cusson <i>et al.</i> , 2005
	<i>Cardium edule</i> , <i>M. edulis</i> , <i>M. arenaria</i>	Nourriture	Rissgrad <i>et al.</i> 2003
Excrétion d'ammoniac	<i>Mytilus californianus</i>	Jeûne, température, zone intertiale	Bayne <i>et al.</i> 1976
Fréquence cardiaque	<i>Mytilus californianus</i>	Température	Bayne <i>et al.</i> 1976
Taux de consommation du phytoplancton	<i>Mytilus edulis</i>	Vitesse du courant	Fréchette, 1989
	<i>Atrina zelandica</i>	Fortes concentrations de seston, reproduction	Hewitt et Pilditch, 2004

Suite Tableau 9 : Caractéristiques physiologiques de base comme indicateurs chez quelques bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Indice de la glande digestive	<i>Mytilus edulis</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mytilus trossulus</i>	Qualité de la nourriture, température	Cartier <i>et al.</i> , 2004
Survie	<i>Mytilus edulis</i>	Émersion et température élevée	LeBlanc <i>et al.</i> 2005
Allocation énergétique à la croissance et à la reproduction (AECR)	<i>Mytilus edulis</i>	Nourriture, température, reproduction et génétique	Tremblay <i>et al.</i> 1998b
Relations allométriques et gonadosomatiques	<i>Placopecten magellanicus</i>	Reproduction	Bonardelli et Himmelman <i>et al.</i> , 1995

9.3 Méthodes d'analyse

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La croissance des pédoncles a été mesurée chez *L. nodosus* par Freitas *et al.* (2003) pendant une période de faible production primaire et de haute température en absence de courant ascendant. Les poids secs des muscles, gonades, glandes digestives et autres tissus ont été utilisés ainsi que la hauteur de la coquille comme indices de croissance.

9.4 Quelques résultats obtenus

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

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

Il y a une diminution de la valeur des indices physiologiques (AECR et DEB) chez différentes espèces de bivalves lors de l'exposition à des polluants (Gilfillan, 1975; Gilfillan *et al.*, 1976; Gilfillan *et al.*, 1977; Gilfillan et Vandermeulen, 1978; Widdows *et al.*, 1981; Widdows *et al.*, 1982; Martin et Severeid, 1984; Martin, 1985; Widdows *et al.*, 1985; Widdows *et al.*, 1987; Widdows et Johnson, 1988; Donkin *et al.*, 1989; Granmo *et al.*, 1989; Butler *et al.*, 1990; Nelson, 1990; Widdows *et al.*, 1990; Widdows et Donkin, 1991; Widdows et Page, 1992; De Kock et Bowmer, 1993). Ces indices répondent également aux variations de nourriture, à la température, à l'effort reproducteur, au niveau d'infection et aux caractéristiques génétiques des individus (Tremblay *et al.*, 1998b; Pouvreau *et al.*, 2006; Samain *et al.*, 2007).

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

Les taux de consommation d'oxygène mesurés par Hole *et al.* (1995) suite à l'exposition à une hausse de température et à faible concentration d'oxygène ont augmenté de façon similaire aux moules témoins chez les plus jeunes moules. Par

contre, chez les moules plus âgées, le taux de consommation d'oxygène reste élevé même 12 heures après le retour à des conditions normales.

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

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

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

9.5 Qualités/inconvénients du test

L'AECR présente une certaine gradation dans la réponse de l'état optimal à létal, ce qui permet d'établir une relation quantitative avec le niveau de stress. Le temps de réponse est relativement court (quelques jours à quelques semaines). Sa mesure est cependant assez complexe, car elle nécessite l'estimation de plusieurs fonctions physiologiques et nécessite des équipements sophistiqués. Bien que les indices de condition soient sensibles à la présence de polluants, ils sont aussi sensibles à toutes conditions biotiques et abiotiques (Bayne *et al.*, 1985). Ainsi, la température (Widdows et Bayne, 1971; Widdows, 1978; Scholnick, 1995), les saisons (Jokela, 1996; Soudant *et al.*, 2004), la salinité (Stickle et Sabourin, 1979; Baillieux *et al.*, 1996), la concentration en oxygène dissous (Diaz *et al.*, 1992; Scholnick, 1995), le type de nourriture disponible (Griffiths et King, 1979; Staikou et Lazaridou-Dimitriadou, 1989; Graca *et al.*, 1993; Vedel et Riisgard, 1993; Jacobsen et Sand-Jensen, 1994), la taille et le stade de développement (Widdows, 1978; Rombough, 1994; Hughes, 1995), l'état reproducteur (Hughes, 1995), les caractéristiques génétiques (Staikou et Lazaridou-Dimitriadou, 1989; Qian et Davies, 1994) ainsi que la densité des populations (Ray et Stoner, 1994) sont tous des facteurs pouvant faire varier l'AECR.

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

10. Marqueurs comportementaux

10.1 Introduction

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

10.2 Bivalves étudiés

Tableau 10 : Indicateurs comportementaux étudiés chez quelques bivalves

Indicateurs	Espèces	Agent stressant	Références
Retourne- ment	<i>Pecten maximus</i>	Dragage (simulation)	Maguire, 2003
Aptitudes de retour- nement (redresse- ment)	<i>Pecten maximus</i>	Émersion et répé- tition sans arrêt du retourne- ment	Fleury et Mary, 2003
Récupé- ration et capacité de retour- nement	<i>Pecten maximus</i>	Manipulation, dragage, émersion et transport	Maguire <i>et al.</i> , 1999, 2002 a, b Minchin <i>et al.</i> , 2000
Récupé- ration	<i>Mizuho- pecten yessoensis</i>	Diminution de la salinité et de l'oxy- gène et exposition aux détergents synthétiques	Tyurin, 1991
Force du muscle	<i>Placopecten magellanicus</i>	Exposition à l'air	Nadeau <i>et al.</i> , 2008 Fleury <i>et al.</i> , 2005
Mouve- ments des valves	<i>Anodonta cygnea</i>	Exposition au cuivre et au plomb	Salanki et Varanka, 1976

Suite Tableau 10 : Indicateurs comportementaux étudiés chez quelques bivalves

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références
Fermeture de la coquille	<i>Mytilus edulis</i>	Émersion	Coleman et Trueman, 1971
		Exposition à un contaminant	Kramer <i>et al.</i> , 1989
		Vitesse du courant et concentration de seston	Newell <i>et al.</i> , 2001
Mouvements des valves	<i>Dreissena polymorpha</i>	Émersion	Sluyts <i>et al.</i> , 1996
	<i>Cerastoderma edule</i>	Émersion	Boyden, 1972
	<i>Cerastoderma glacum</i>	Émersion	Boyden, 1972
	<i>Corbicula fluminea</i>	Reproduction	Byrne <i>et al.</i> , 1990
	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> , 2000
Réponse de fuite	<i>Euvola zizac</i>	Reproduction	Brokordt <i>et al.</i> , 2000
	<i>Placopecten magellanicus</i>	Température et émersion	Lafrance <i>et al.</i> , 2002
Force d'attachement	<i>Mytilus edulis</i>	Hydrodynamisme, cycle de reproduction	Carrington, 2002b
		Hydrodynamisme, saisons, habitat, taille	Hunt et Scheibling, 2001 Lachance <i>et al.</i> , 2008
		Taille et courant	Lee <i>et al.</i> , 1990
	<i>Mytilus trossolus</i>	Température, hydrodynamisme	Price, 1982
		Hydrodynamisme, saisons, habitat, taille	Hunt et Scheibling, 2001

10.3 Méthodes d'analyse

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

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

Indicateurs	Espèces	Agents stressant	Références	
Enfouissement	<i>Corbicula fluminea</i>	Émersion	Byrne <i>et al.</i> , 1990	
		<i>Macoma balthica</i>	Type de sédiment, hypoxie et présence de prédateurs	Tallqvist, 2001
			Saisons	De Goeij et Luttkhuizen, 1998 Zwarts et Wanink, 1993 Piersma <i>et al.</i> , 1994 Zwarts <i>et al.</i> , 1994
	<i>Mya arenaria</i>	Taille, granulométrie du substrat et température	Pfitzenmeyer et Drobeck, 1967	
		<i>Tagelus dombeii</i>	Disponibilité de nourriture, température, salinité	Lardies <i>et al.</i> , 2001
	<i>Venus antiqua</i>	Disponibilité de nourriture, température, salinité	Lardies <i>et al.</i> , 2001	
		<i>Scrobicularia plana</i>	Taille	Zwarts <i>et al.</i> , 1994
	<i>Spisula solida</i>	Dragage	Chicharo <i>et al.</i> , 2003	
		<i>Venerupis decussates</i>	Cuivre	Stephenson et Taylor, 1975
	<i>Pecten maximus</i>	Émersion et répétition sans arrêt du retournement	Fleury et Mary, 2003	
Aire du siphon exhalant		<i>Mytilus edulis</i>	Vitesse du courant et concentration de seston Newell <i>et al.</i> , 2001	
Nombre de filaments de byssus	<i>Mytilus edulis</i>	Saisons et hydrodynamisme	Moeser <i>et al.</i> , 2006	
		Émersion, taille, agitation mécanique, salinité	Van Winkle, 1970	
	<i>Modiolus demissus</i>	Température, salinité, hydrodynamisme, saisons	Young, 1985	
Émersion, taille, agitation mécanique, salinité		Van Winkle, 1970		
Nombre de byssus et vitesse de production	<i>Mytilus edulis</i> L.	Courants	Lee <i>et al.</i> , 1990	

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

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

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

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

10.4 Quelques résultats obtenus

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

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

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

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

10.5 Qualités/inconvénients du test

Les indicateurs comportementaux sont des indices généralement facilement applicables et qui donnent des réponses rapides et ne demandant pas d'investissements financiers trop importants. Par contre, il est nécessaire de bien connaître les variations saisonnières naturelles chez l'espèce étudiée. Leur fiabilité et leur sensibilité face à différents agents stressants restent à être étudiées. Par contre, certains indices semblent avoir été validés comme le démontrent les tests de retournement et d'enfouissement de la coquille Saint-Jacques, dont la sensibilité et la fiabilité semblent acceptables. Ces tests

semblent assez sensibles puisque les individus « fatigués » par une émergence prolongée ont montré des temps de réponse plus longs (Fleury et Mary, 2003). Certains animaux répondent différemment aux tests selon le moment de la journée. De plus, il est possible qu'il y ait une sorte d'apprentissage lors des premiers enfouissements et retournements et que les tests successifs entraînent une stabilité des réponses. Ainsi, les épreuves doivent être répétées sur un effectif suffisant. La force du muscle chez les pectinidés semble avoir un potentiel intéressant pour évaluer la vitalité d'un individu. Toutefois, le protocole expérimental nécessite d'être très bien établi et suivi (Nadeau *et al.* 2008).

11. Conclusion

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

Les indices portant sur des fonctions générales de l'organisme comme les tests de comportement (force d'attachement, enfouissement, redressement, etc.) ou physiologiques (force musculaire, maintien de l'herméticité de la coquille, etc.) prennent en compte une grande part de l'état physiologique des animaux. Ce sont des indices plus globaux qui sont donc avantageux puisqu'ils permettent de déterminer une vitalité au plus large spectre d'aptitudes possibles au détriment, par contre, d'une compréhension fine des facteurs de stress et de leurs effets sur l'organisme.

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

Références

- ABELE, D., K. Heise, H. O. Pörtner et S. Puntarulo, 2002. « Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria* », *J. Exp. Biol.*, 205, 1831-1841
- AHNSTORM, G. et K. Erixon, 1980. « Measurement of strand breaks by alkaline denaturation and hydroxylapatite chromatography » dans E. C. Friedberg et P. C. Hanawalt (eds.) « DNA Repair, Vol 1, Part 1 », Marcel Dekker, Inc., New-York, 403-419
- AKERBOOM, T. P. M. et H. Sies, 1981. « Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathion mixed disulfides in biological samples », dans W. B. Jakoby (ed.), « Methods in Enzymology, Vol. 77 », Academic Press, San Diego, 373-382
- AMIARD, J.-C. et R. P. Cosson, 1997. « Les métallothionéines » pp.53-66 dans « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Lagadic, L., T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade, Masson, Paris, 419 p.
- ANDERSON, R. S., 1981. « Effects of carcinogenic and non-carcinogenic environmental pollutants on immunological functions in marine invertebrates » dans C. J. Dawe, J. C. Harshbarger, S. Kondo, T. Sagimura et S. Takayama (eds.), « Phylogenetic Approach to Cancer », Japan Scientific Society Press, Tokyo, 319-331
- ANDERSON, R. S., L. M. Oliver et D. Jacobs, 1992. « Immunotoxicity of cadmium for the eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin, 1971): effects on haemocyte chemiluminescence », *J. Shellfish Res.*, 11, 31-35
- ATKINSON, D. E., 1968. « The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers », *Biochemistry*, 3, 4030-4034
- BADYAEV, A. V., K. R. Foresman et M. V. Fernandes, 2000. « Stress and developmental stability: vegetation removal causes increased fluctuating asymmetry in shrews », *Ecology*, 81, 336-345
- BAILLIEUL, M., M. Selens et R. Blust, 1996. « Scope for growth and fitness of *Daphnia magna* in salinity-stressed conditions », *Func. Ecol.*, 10, 227-233
- BALLARIN, L., D. M. Pampanin et M. G. Marin, 2003. « Mechanical disturbance affects haemocyte functionality in the Venus clam *Chamelea gallina* », *Comp. Biochem. Phys.*, 136A, 631-640
- BAUDRIMONT, M., J. Metivaud, R. Maury-Brachet, F. Ribeyre et A. Boudou, 1997. « Bioaccumulation and metallothionein response in the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*) after experimental exposure to cadmium and inorganic mercury », *Environ. Toxicol.Chem.*, 16, 2096-2105
- BAYNE, B. L., 2001. « Reply to comment by H.U. Rissgard », *Ophelia*, 54, 211
- BAYNE, B. L., 2004. « Comparisons of measurements of clearance rates in bivalve molluscs », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 276, 305-306
- BAYNE, B. L., C. J. Bayne, T. C. Carefoot et R. J. Thompson, 1976. « The physiological ecology of *Mytilus californianus* Conrad », *Oecologia*, 22, 211-228
- BAYNE, B. L., D. A. Brown, K. Burns, D. R. Dixon, A. Ivanovici, D. R. Livingstone, D. M. Lowe, N. M. Moore, A. R. D. Stebbing et L. Widdows, 1985. « The effect of stress pollution on marine animals », Praeger Special Studies, New-York, 384 p
- BEAL, B. F. et M. G. Krauss, 2002. « Interactive effects of initial size, stocking density, and type of predator deterrent netting on survival and growth of cultured juveniles of the soft-shell clam, *Mya arenaria* L., in eastern Maine », *Aquaculture*, 208, 81-111
- BEBIANNO, M. J., J. A. Nott et W. J. Langston, 1993. « Cadmium in the clam *Ruditapes decussata* – The role of metallothioneins », *Aquat. Toxicol.*, 27, 315-333
- BEERS, R. F. et I. W. Sizer, 1952. « A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase », *J. Biol. Chem.*, 195, 133-190
- BEHRENS, W. A. et R. Madere, 1991. « Malonaldehyde determination in tissues and biological fluids by ion-pairing high-performance liquid chromatography », *Lipids*, 26, 232-236
- BELL, E. C. et J. M. Gosline, 1997. « Strategies for life in flow: tenacity, morphometry, and probability of dislodgment of two *Mytilus* species », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 159, 197-208
- BENSAUDE, O., 1992. « Protéines de choc thermique, transport de protéines dans le noyau et oncogénèse », *Médecine-Sciences*, 8, 710-713
- BITENSKY, L., R. S. Butcher et J. Chayen, 1973. « Quantitative cytochemistry in the study of lysosomal function » dans J. T. Dingle (ed.), « Lysosomes in biology and pathology, Vol. 3 », Elsevier, Amsterdam, p. 465-510
- BJORKSTEN, T., K. Fowler et A. Pomiakowski, 2000. « What does sexual trait FA tell us about stress? », *TREE*, 15, 163-166
- BLAISE, C., S. Trottier, F. Gagné, C. Lallement et P.-D. Hansen, 2002a. « Immunocompetence of bivalve hemocytes as evaluated by miniaturized phagocytosis assay », *Environ. Toxicol.*, 17, 3, 160-169
- BLAISE, C., F. Gagné, J. Pellerin, P. D. Hansen et S. Trottier, 2002b. « Molluscan shellfish biomarker study of the Quebec, Canada, Saguenay Fjord with the soft-shell clam, *Mya arenaria* », *Environ. Toxicol.*, 17, 170-186
- BLIGH, E. G. et W. J. DYER, 1959. « A rapid method of total lipid extraction and purification », *Can. J. Biochem.*, 37, 911-915
- BONARDELLI, J. C. et J. H. Himmelman, 1995. « Examination of assumptions critical to body component indices: application to the giant scallop *Placopecten magellanicus* », *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 52, 2457-2469
- BORDIN, G., J. McCourt, R. Cordeiro Raposo et A. R. Rodriguez, 1997. « Metallothionein-like metalloproteins in the Baltic clam *Macoma balthica*: Seasonal variations and induction upon metal exposure », *Mar. Biol.*, 129, 453-463
- BOUCHARD, N., M. Fournier et E. Pelletier, 1999. « Effects of butyltin compounds on hemocytes phagocytosis activity of three marine bivalves », *J. Tox. Env. Chem.*, 18, 519-522
- BOYDEN, C. R., 1972. « The behaviour, survival and respiration of the cockles *Cerastoderma edule* and *C. glaucum* in air », *J. Mar. Biol. Ass.*, 52, 661-680
- BRADLEY, B. P. et J. B. Ward, 1989. « Detection of a major stress protein using a peptide antibody », *Mar. Environ. Res.*, 28, 471-475
- BRESSAN, M. et M. G. Marin, 1985. « Seasonal variations in biochemical composition and condition index of cultured mussels (*Mytilus edulis* Lmk) in the lagoon of Venice (North Adriatic) », *Aquaculture*, 48, 13-21
- BROKORDT, K. B., J. H. Himmelman, O. A. Nusetti et H. E. Guderley, 2000. « Reproductive investment reduces recuperation from exhaustive escape activity in the tropical scallop *Euvola zizac* », *Mar. Biol.* 137, 857-865
- BROUSSEAU, P., N. Fugere, D. Coderre, D. Nadeau, G. Poirier et M. Fournier, 1997. « Evaluation of earthworm exposure to contaminated soil by cytometric assay of coelomocyte phagocytosis in *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta) ». *Soil Biol. Biochem.*, 29, 681-684

- BROUSSEAU, P., Y. Payett, B. Blakley, H. Boermans, H. Tryphonas et M. Fournier, 1999. « Manual of Immunological Methods », CRC Press, 1999, Boston, USA, 141 p.
- BROUSSEAU, P., J. Pellerin, Y. Morin, D. Cyr, B. Blakley, H. Boermans et M. Fournier, 2000. « Flow cytometry as a tool to demonstrate the disturbance of phagocytosis in the clam *Mya arenaria* following exposure to heavy metals », *Toxicology*, 142, 145-156
- BROWN, C. R. et Bomberger Brown, 1998. « Intense natural selection on body size and wing and tail asymmetry in cliff swallows during severe weather », *Evolution*, 52, 1461-1574
- BROWN, D. C., B. P. Bradley et K. T. Paynter, 1993. « The physiological effects of protozoan parasitism on the eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Induction of stress proteins », *J. Shellfish Res.*, 12, 135-136
- BROWN, D. C., B. P. Bradley et M. Tedengren, 1995. « Genetic and environmental regulation of HSP70 expression », *Mar. Environ. Res.*, 39, 181-184
- BUEGE, J. A. et S. D. Aust, 1978. « Microsomal lipid peroxydation » dans S. Fleischer et L. Packer (eds), « Methods in Enzymology, Vol. 52 », Academic Press, San Diego, 302-310
- BUTLER, R., B. D. Robbie et C. P. Mainstone, 1990. « The effects of sewage sludge on two life-history stages of *Mytilus edulis* », *Chem. Ecol.*, 4, 211-219
- BUU, B. et Y. Le Gal, 1989. « Réponse de la coque *Cardium edule* à l'intoxication par le cadmium », *Oceanis*, 15, 591-597
- BYRNE, R. A., E. Gnaiger, R. F. McMahon et T. H. Dietz, 1990. « Behavioral and metabolic responses to emersion and subsequent reimmersion in the freshwater bivalve, *Corbicula fluminea* », *Biol. Bull.*, 178, 251-259
- CARBALLAL, M. J., C. Lopez, C. Azevedo et A. Villalba, 1997. « Enzymes involved in defense functions of hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis* », *J. Invertebr. Pathol.*, 70, 96-105
- CARLBERG, I. et B. Mannervik, 1985. « Glutathione reductase » dans A. Meister (ed.), « Methods in Enzymology, Vol. 113 », Academic Press, San Diego, 484-489
- CARRINGTON, E., 2002a. « The ecomechanics of mussel attachment: from molecules to ecosystems », *Int. Comp. Biol.* 42, 846-852
- CARRINGTON, E., 2002b. « Seasonal variation in the attachment strength of blue mussels : Causes and consequences », *Limnol. Oceanogr.*, 47, 1723-1733
- CARTIER, S., J. Pellerin, M. Fournier, E. Tamigneaux, L. Girault et N. Lemaire, 2004. « Use of an index based on the blue mussel (*Mytilus edulis* and *Mytilus trossolus*) digestive gland weight to assess the nutritional quality of mussel farm sites », *Aquaculture*, 241, 633-654
- CHENG, T. C., 1981. « Bivalves », dans N. A. Ratcliffe et A. F. Rowley (eds.), « Invertebrate Blood Cells 1 », Academic Press, London, 233-300
- CHENG, T. C., 1988. « In vivo effects of heavy metals on cellular defense mechanisms of *Crassostrea virginica*: phagocytic and endocytic indices », *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 215-220
- CHENG, T. C. et J. T. Sullivan, 1984. « Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes », *Mar. Environ. Res.*, 14, 305-315
- CHICHARO, M. A., A. Amaral, S. Condiño, F. Alves, J. Regala, M. Gaspar et L. Chicharo, 2003. « Adenylic-derived indices and reburying time as indicators of the effects of dredging-induced stress on the clam *Spisula solida* », *Marine Biology*, 142, 1113-1117
- CHIPPINDALE, A. K. et A.R. Palmer, 1993. « Persistence of subtle departures from symmetry over multiple molts in individual brachyuran crabs: relevance to developmental stability », *Genetica*, 89, 185-199
- CHU, F. L. E. et J. F. La Peyre, 1989. « Effect of environmental factors and parasitism on hemolymph lysozyme and protein of American oysters (*Crassostrea virginica*) », *J. Invertebr. Pathol.*, 54, 224-232
- COCHRANE, B. J., R. B. Irby et T. W. Snell, 1991. « Effects of copper and tributyltin on stress protein abundance in the rotifer *Brachionus plicatilis* », *Comp. Biochem. Physiol.*, 98 C, 385-390
- COLEMAN, N. et E. R. Trueman, 1971. « The effect of aerial exposure on the activity of the mussels *Mytilus edulis* (L.) and *Modiolus modiolus* (L.) », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 7, 295-304
- COLES, J. A., S. R. Farley et R. K. Pipe, 1994. « The effects of fluoranthene on the immunocompetence of the common marine mussel, *Mytilus edulis* », *J. Aquat. Toxicol.*, 30, 367-379
- COLES, J. A., S. R. Farley et R. K. Pipe, 1995. « Alteration of the immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium », *Dis. Aquat. Org.*, 22, 59-65
- COLLIN, R., 1997. « Ontogeny of subtle skeletal asymmetries in individual larvae of the sand dollar *Dendraster excentricus* », *Evolution*, 51, 999-1005
- COMBS, C. A. et W. R. Ellington, 1995. « Graded intracellular acidosis produces extensive and reversible reductions in the effective free energy change of ATP hydrolysis in a molluscan muscle », *J. Comp. Physiol. B*, 165, 203-212
- COSSU, C., A. Doyotte, M.-C. Jacquin et P. Vasseur, 1997a. « Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques », pp.149-163 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.
- COSSU, C., A. Doyotte, M.-C. Jacquin et P. Vasseur, 1997b. « Mécanismes de formation et effets des espèces réactives de l'oxygène », pp.125-147 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.
- CSALLANY, A. S., D. M. Guan, J. D. Manwaring et P. B. Addis, 1984. « Free malonaldehyde determination in tissues by high-performance liquid chromatography », *Anal. Biochem.*, 42, 277-283
- CUSSON, M., R. Tremblay, G. Daigle et M. Roussy, 2005. « Modeling the depuration potential of blue mussels (*Mytilus* spp.) in response to thermal shock », *Aquaculture*, 250, 183-193
- DAHLHOFF, E. P., 2004. « Biochemical indicators of stress and metabolism: Applications for marine ecological studies », *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 183-207
- DAVID, E., A. Tanguy, K. Pichavang et D. Moraga, 2005. « Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions », *FEBS Journal*, 272, 5635-5652
- DE GOEIJ, P. et P. Luttkhuizen, 1998. « Deep-burying reduces growth in intertidal bivalves : field and mesocosm experiments with *Macoma balthica* », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 228, 327-337
- DE KOCK, W. C. et C. T. Bowmer, 1993. « Bioaccumulation, biological effects and food chain transfer of contaminants in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) dans T. F. Nalepa et D. Schloesser (eds.), « Zebra Mussels: Biology, Impacts and Control », Lewis Publishers, Boca Raton, 503-533
- DE LAFONTAINE, Y., F. Gagné, C. Blaise, G. Costan, P. Gagnon et H.M. Chan, 2000. « Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St. Lawrence River (Canada) », *Aquat. Toxicol.*, 50: 51-71

- DE ZWAAN, A., R. J. Thompson et D. R. Livingstone, 1980. « Physiological and biochemical aspects of the valve snap and valve closure responses in the giant scallop *Placopecten magellanicus*, II, Biochemistry », J. Comp. Physiol., 137, 105-114
- DEL MAESTRO, R. et W. McDonald, 1987. « Distribution of superoxyde dismutase, glutathione peroxidase and catalase in developing rat brain », Mech. Age. Develop., 41, 29-38
- DEL RAMO, J., A. Torreblanca, M. Martinez, A. Pastor et J. Diaz-Mayans, 1995. « Quantification of cadmium-induced metallothionein in crustaceans by the silver-saturation method », Mar. Environ. Res., 39, 121-125
- DENNY, M. W., 1987. « Lift as a mechanism of patch initiation in mussel bed », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 113, 231-245
- DHAINAUT, A., J. Bonaly, J.-Ph. Barque, C. Minier et Th. Caquet, 1997. « Protéines de choc thermique et résistance multixénobiotique », pp.67-95 dans « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Lagadic, L., T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade, Masson, Paris, 419 p.
- DIAZ, R. J., R. J. Neubauer, L. C. Schaffner, L. Pihl et S. P. Baden, 1992. « Continuous monitoring of dissolved oxygen in a estuary experiencing periodic hypoxia and the effect hypoxia on macrobenthos and fish », Sci. Tot. Environ., Suppl., 1055-1068
- DONKIN, P., J. Widdows, S. V. Evans, C. M. Worrall et M. R. Carr, 1989. « Quantitative structure-activity relationships for the effects hydrophobic organic chemicals on rate of feeding by mussels (*Mytilus edulis*) », Aquat. Toxicol., 14, 277-294
- DOYOTTE, A., C. Cossu, M.-C. Jacquin, M. Babut et P. Vasseur, 1997. « Antioxydant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio Tumidus* », Aquat. Toxicol., 39, 93-110
- DREW, B., D. Miller, T. Toop et P. Hanna, 2001. « Identification of expressed HSP's in blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach), during heat and salinity stresses », J. Shellfish Res., 20, 695-703
- DUNCAN, P. F., 1993. « Post-harvest physiology of the scallop *Pecten maximus* (L.) », PhD Thesis, University of Glasgow, Scotland, 184 p.
- EERTMAN, R. H. M. et A. DeZwinn, 1994. « Survival of the fittest: Resistance of mussels to aerial exposure » dans K. J. M. Kramer (ed.), « Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries », CRC Press, Boca Raton, FL, 269-284
- EERTMAN, R. H. M., A. J. Wagenvoort, H. Hummel et A. C. Smaal, 1993. « Survival in air of the blue mussel *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 170, 179-195
- ELLIS, R. J. et S. M. Vandervies, 1991. « Molecular chaperones », Annu. Rev. Biochem., 60, 321-347
- ELLIS, R.J., S. M. Vandervies et S. M. Hemmingsen, 1989. « The molecular chaperon concept », Biochem. Soc. Symp., 55, 145-153
- EMERSON, C. W., 1990. « Influence of sediment disturbance and water flow on the growth of the soft-shell clam, *Mya arenaria* L. », Can. J. Fish. Aquat. Sci., 47, 1655-1663
- ESTERBAUER, H. et H. Zollner, 1989. « Methods for determination of aldehydic lipid peroxydation products », Free Rad. Biol. Med., 7, 197-203
- ESTERBAUER, H., J. Lang, S. Zdravec et T. F. Slater, 1984. « Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography » dans L. Packer (ed.), «Methods in Enzymology, Vol. 105 », Academic Press, San Diego, 319-328
- FAIRBAIRN, D. W., P. L. Olive et K. L. O'Neill, 1995. « The comet assay: a comprehensive review », Mutation Res., 339, 37-59
- FALES, F. W., 1951. « The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells », J. Biol. Chem., 193, 113-124
- FERNÁNDEZ-REIRIZ, M. J., A. Perez-Camacho, M. J. Ferreira, J. Blanco, M. Planas, M. J. Campos et U. Labarta, 1989. « Biomass production and variation in the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae », Aquaculture, 83, 17-37
- FLEURY, P. G. et S. Mary, 2003. « Quelques indices de vitalité simples appliqués à la coquille Saint-Jacques européenne, *Pecten maximus* : aptitudes au retournement et à l'enfouissement », Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.61-66
- FLEURY, P. G. et J. Mazurié 2003. «Vitalité, stress et risque de mortalité : comment les définir et comment les mesurer chez les Mollusques bivalves ? ». Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février, p.8-16
- FLEURY, P.G., C. Mingant et A. Castillo, 1997. « A preliminary study of the behaviour and vitality of reseeded juvenile great scallop of three sizes in three seasons », Aquacult. Int., 4, 325-337
- FLEURY, P.-G., X. Janssoone, M. Nadeau et H. Guderley, 2005. « Force production during escape responses: Sequential recruitment of the phasic and tonic portions of the adductor muscle in juvenile sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin) », J. Shellfish Res., 4, 905-911
- FLOHE, L. et W. A. Gunzler, 1984. « Assays of glutathione peroxidase » dans L. Packer (ed.), «Methods in Enzymology, Vol. 105 », Academic Press, San Diego, 114-121
- FOURNIER, M., D. Cyr, B. Blakley, H. Boermans et P. Brousseau, 2000. « Phagocytosis as a biomarker of immunotoxicity in wildlife species exposed to environmental xenobiotics », Amer. Zoologist., 40, 412-420
- FOURNIER, M., J. Pellerin, M. Lebeuf, P. Brousseau, Y. Morin et D. Cyr, 2002. « Effects of exposure of *Mya arenaria* and *Mactromeris polynyma* to contaminated marine sediments on phagocytosis activity of hemocytes », Aquat. Toxicol., 59, 83-92
- FOURNIER, M., J. Pellerin, D. Cyr, M. Lebeuf et P. Brousseau, 2003. « Utilisation de marqueurs immunologiques pour le suivi d'organismes vivants exposés à des substances toxiques ». Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.17-23
- FRÉCHETTE, M., 1989. « The importance of boundary-layer flows in supplying phytoplankton to the benthic suspension feeder, *Mytilus edulis* L. », Limol. Oceanogr., 34, 19-36
- FRÉCHETTE, M. et G. Daigle, 2002. « Growth, survival and fluctuating asymmetry of Iceland scallops in a test of density-dependent growth in a natural bed », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 270, 73-91
- FRÉCHETTE, M., P. Gouletquer et G. Daigle, 2003. « Fluctuating asymmetry and mortality in cultured oysters (*Crassostrea gigas*) in Marennes-Oléron Basin », Aquat. Living Resour., 16, 339-346
- FREITES, L., M. J. Fernandez-Reiriz et U. Labarta, 2002a. « Lipid classes of mussel seeds *Mytilus galloprovincialis* of subtidal and rocky shore origin », Aquaculture, 207, 97-111
- FREITES, L., U. Labarta et M. J. Fernandez-Reiriz, 2002b. « Evolution of fatty acids profiles of subtidal and rocky shore mussel seed (*Mytilus galloprovincialis*, Lmf) – Influence of environmental parameters », J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 268, 185-204

- FREITES, L., C. J. Lodeiros, N. Narvaez, G. Estrella et J. M. F. Babarro, 2003. « Growth and survival of the scallop *Lyropecten* (= *Nodipecten*) *nodosus* (L. 1758) in suspended culture in the Cariaco Gulf (Venezuela) during a non-upwelling period », *Aquacult. Res.*, 34, 709-718
- FRIES, C. R. et M. R. Tripp, 1980. « Depression of phagocytosis in *Mercenaria* following chemical stress », *Dev. Comp. Immunol.*, 4, 233-244
- GAGNÉ, F., C. Blaise, J. Pellerin et S. Gauthier-Clerc, 2002. « Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord », *Mar. Environ. Res.*, 53, 295-310
- GAGNÉ, F., C. Blaise, J. Pellerin, E. Pelletier et J. Strand, 2006. « Health status of *Mya arenaria* bivalves collected from contaminated sites in Canada (Saguenay Fjord) and Denmark (Odense Fjord) », *Ecotox. Environ. Safety*, 64, 348-361
- GERET, F., A. Serafim, L. Barreira et M. J. Bebianno, 2002. « Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus* », *Biomarkers*, 7, 242-256
- GIESY, J. P., C. Duke, R. Bingham et S. R. Denzer, 1978. « Energy charges in several mollusca and crustaceans: Natural values and response to cadmium stress », *Bull. Ecol. Soc. Amer.*, 59, 66
- GIESY, J. P., S. R. Denzer, C. S. Duke et G. W. Dickson, 1981. « Phosphoadenylate concentrations and energy charge in two freshwater crustaceans: Responses to physical and chemical stressors », *Verh. Internat. Verein. Limol.*, 21, 205-220
- GIESY, J. P., C. Duke, R. Bingham, G. W. Dickson et G. J. Leversee, 1983. « Changes in phosphoadenylate concentrations and adenylate energy charge as an integrated biochemical measure of stress in invertebrates: the effects of cadmium on the freshwater clam *Corbicula fluminea* », *Environ. Toxicol. Chem.*, 6, 259-295
- GILFILLAN, E. S., 1975. « Decrease in net carbon flux in two species of mussels caused by extracts of crude oil », *Mar. Biol.*, 29, 53-58
- GILFILLAN, E. S. et J. H. Vandermeulen, 1978. « Alterations in growth and physiology in chemically oiled soft-shell clams, *Mya arenaria*, chemically oiled with Bunker C from Chedabucto Bay, Nova Scotia, 1970-1976 », *J. Fish. Res. Bd Can.*, 35, 630-636
- GILFILLAN, E. S., L. C. Jiang, D. Donovan, S. Hanson et D. W. Mayo, 1976. « Reduction in carbon flux in *Mya arenaria* caused by a spill of No. 2 fuel oil », *Mar. Biol.*, 37, 115-123
- GILFILLAN, E. S., D. W. Mayo, D. S. Page, D. Donovan et S. Hanson, 1977. « Effects of varying concentrations of petroleum hydrocarbons in sediments on carbon flux in *Mya arenaria* », dans F. J. Vernberg, A. Calabrese, F. P. Thurberg et W. B. Vernberg (eds.), « *Physiological Responses of Marine Biota to Pollutants* », Academic Press, New York, 299-314
- GRACA, M. A. S., L. Maltby et P. Calow, 1993. « Importance of fungi in the diet of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus* : Effects on growth, reproduction and physiology », *Oecologia*, 96, 304-309
- GRANMO, A., R. Ekeland, K. Magnusson et M. Berggren, 1989. « Lethal et sublethal toxicity of 4-nonylphenol to the common mussel (*Mytilus edulis*) », *Environ. Pollut.*, 59, 115-127
- GRASSHOFF, K. et H. Johannsen, 1972. « A new, sensitive and direct method for the automatic determination of ammonia in seawater », *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, 34, 516-521
- GRAVATO, C., M. Oliveira et M. A. Santos, 2005. « Oxidative stress and genotoxic responses to resin acids in Mediterranean mussels », *Ecotox. Env. Safe.*, 61, 221-229
- GRIFFITH, C. C. et J. A. King, 1979. « Energy expended on growth and gonad output in the ribbed mussel, *Amyclomya ater* », *Mar. Biol.*, 53, 217-222
- HARDING, J. M., C. Couturier, G. J. Parsons et N. W. Ross, 2004. « Evaluation of the neutral red assay as a stress response indicator in cultivated mussels (*Mytilus* spp.) in relation to post-harvest processing activities and storage conditions », *Aquaculture*, 231, 315-326
- HAYA, K. et B. A. Waiwood, 1983. « Adenylate energy charge and ATPase activity: Potential biochemical indicators of sublethal effects caused by pollution in aquatic animals » dans J. O. Nriagu (ed.), « *Aquatic toxicology* », John Wiley, New York, 307-333
- HAYA, K., C. E. Johnson et B. A. Waiwood, 1980. « Adenylate energy charge and ATPase activity in american lobster (*Homarus americanus*) from Belledune Harbour », *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sc.*, 963, 85-91
- HAYA, K., B. A. Waiwood et D. W. Johnson, 1983. « Adenylate energy charge and ATPase activity of lobster (*Homarus americanus*) during sublethal exposure to zinc », *Aquat. Toxicol.*, 3, 115-126
- HED, J., 1995. « Methods for distinguishing ingested from adhering particles », *Method Enzymol.*, 132, 198-204
- HÉGARET, H., G. H. Wikfors, P. Soudant, M. delaporte, J. H. Alix, B. C. Smith, M. S. Dixon, C. Quére, J. R. Le Coz, C. Paillard, J. Moal et J.-F. Samain, 2004. « Immunological competence of eastern oyster, *Crassostrea virginica*, fed different microalgal diets and challenge with a temperature elevation », *Aquaculture*, 234, 541-560
- HEWITT, J. E. et C. A. Pilditch, 2004. « Environmental history and physiological state influence feeding responses of *Atrina zelandica* to suspended sediment concentrations », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 306, 95-112
- HOCHWENDER, C. G. et R. S. Fritz, 1999. « Fluctuating asymmetry in a *Salix* hybrid system: the importance of genetic versus environmental causes », *Evolution*, 53, 408-416
- HOFMANN, G. E., 2005. « Patterns of Hsp gene expression in ectothermic marine organisms on small to large biogeographic scales », *Int. Comp. Biol.*, 45, 247-255
- HOLE, L. M., M. N. Moore et D. Ballamy, 1995. « Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 122, 173-178
- HOOPER, A., R. W. Day, R. Slocombe, J. Handlinger et K. Benkerdorff, 2007. « Stress and immune responses in abalone: Limitations in current knowledge and investigative methods based on other models », *Fish. Shellfish Immunol.*, 22, 363-379
- HOPKINS, A. E., 1949. « Determination of condition of oysters », *Science*, 110, 567-568.
- HOSKEN, D. J., W. U. Blanckenhorn et P. I. Ward, 2000. « Developmental stability in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): fluctuating asymmetry, heterozygosity and environmental stress », *J. Evol. Biol.*, 13, 919-926
- HUGHES, R. N., 1995. « Resource allocation, demography and the radiation of life history in rough periwinkles (Gastropoda) », *Hydrobiologia*, 309, 1-14
- HUNT, H. L. et R. E. Scheibling, 2001. « Predicting wave dislodgment of mussels: variation in attachment strength with body size, habitat, and season », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 213, 157-164
- ISANI, G., R. Serra, O. Cattani, P. Cortesi et E. Carpena, 1997. « Adenylate energy charge and metallothionein as a stress indice in *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium and anoxia », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 77, 1187-1197

- IVANOVICI, A. M., 1979. « Adenylate energy charge: potential value as a tool for rapid determination of toxicity effects », *Mar. Ser. Tech. Rep.*, 862, 241-255
- IVANOVICI, A. M. et W. J. Wiebe, 1982. « For working definition of « stress »: a review and critique » dans G. W. Barrett et R. Rosenberg (eds.), « *Stress and Natural Ecosystems* », John Wiley & Sons, New York, 13-27
- JOHN, D. M. et J. A. Pechnik, 1980. « Influence of water accommodated fraction of MO₂ fuel oil on energetic of *Cancer irroratus* larvae », *Mar. Biol.*, 55, 247-254
- JOKELA, J., 1996. « Within-season reproductive and somatic energy allocation in a freshwater clam, *Anodonta piscinalis* », *Oecologia*, 105, 167-174
- KAGLEY, A. N., R. G. Snider, P. K. Krishnakumar et E. Casillas, 2003. « Assessment of seasonal variability of cytochemical responses to contaminant exposure in the blue mussel *Mytilus edulis* (complex) », *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 43-52
- KENNEDY, V. S. et J. A. Mihursky, 1972. « Effects of temperature on the respiratory metabolism of three Chesapeake Bay bivalves », *Chesapeake Science*, 13, 1-22
- KIMBROUGH, K. L., W. E. Johnson, G. G. Lauenstein, J. D. Christensen et D. A. Apeti, 2008. « An assessment of two decades on contaminant monitoring in the nation's coastal zone », Silver Spring, MD., NOAA technical report, NOS NCCOS 74, 105 p.
- KLINKEN, J. et H. R. Skjoldal (1983). « Improvements of luciferin-luciferase methodology for determination of adenylate energy charge ratio of marine samples », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 13, 305-309
- KOHN, K. W., 1986. « Assessment of DNA damage by filter elution assays » dans M. G. Simic, L. Grossman et A. C. Upton (eds.) « *Mechanisms of DNA damage and repair. Implications for Carcinogenesis and Risk Assessment* », Plenum Press, New-York, 101-118
- KOOIJMAN, S., 1986. « Energy budgets can explain body size relations », *J. Theor. Biol.*, 121, 269-282
- KOZLOV, M. V., E. L. Zvereva et P. Niemi, 2001. « Shoot fluctuating asymmetry: a new and objective stress index in Norway spruce (*Picea abies*) », *Can. J. For. Res.*, 31, 1289-1291
- KRAMER, K. J. M., H. A. Jenner et D. De Zwart, 1989. « The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring », *Hydrobiol.* 188/189, 433-443
- KRISHNAKUMAR, P. K., E. Casillas et U. Varanasi, 1994. « Effects of chemical contaminants on the health of *Mytilus edulis* from Puget Sound, Washington, USA, Cytochemical measures of lysosomal responses in the digestive cells using automatic image analysis », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 106, 249-261
- KROIHER, M., M. Walter et S. Berking, 1992. « Heat shock as inducer of metamorphosis in marine invertebrates », *Roux's Arch Dev. Biol.*, 201, 169-172
- LACHANCE, A.-A., B. Myrand, R. Tremblay, V. Koutitonsky et E. Carrington, 2008. « Biotic and abiotic factors influencing attachment strength of blue mussels *Mytilus edulis* in suspended culture », *Aquat. Biol.*, 2, 119-129
- LAFRANCE, M., H. Guderley et G. Cliche, 2002. « Low temperature, but not air exposure slows the recuperation of juvenile scallops, *Placopecten magellanicus*, from exhausting escape responses », *J. Shellfish Res.* 21, 605-618
- LANGSTON, W. J., M. J. Bebianno et M. Zhou, 1989. « A comparison of metal-binding proteins and cadmium metabolism in the marine molluscs *Littorina littorea* (Gastropoda), *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* (Bivalvia) », *Mar. Environ. Res.*, 28, 195-200
- LARDIES, M. A., E. Clasing, J. M. Navarro et R. A. Stead, 2001. « Effects of environmental variables on burial depth of two infaunal bivalves inhabiting a tidal flat in southern Chile », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 81, 809-816
- LARSON, K. G., B. S. Roberson et F. M. Hetrick, 1989. « Effect of environmental pollutants on the chemiluminescence of hemocytes from the American oyster *Crassostrea virginica* », *Dis. Aquat. Org.*, 6, 131-136
- LE GAL, Y., L. Lagadic, S. Le Bras et Th. Caquet, 1997. « Charge énergétique en adényles (CEA) et autres biomarqueurs associés au métabolisme énergétique », pp. 241-285, dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux* », Masson, Paris, 419 p.
- LEBLANC, N., T. Landry, H. Stryhn, R. Tremblay, M. McNiven et J. Davidson, 2005. « The effect of high air and water temperature on juvenile *Mytilus edulis* in Prince Edward Island, Canada », *Aquaculture*, 243, 185-194
- LEE, C. Y., S. S. L. Lim et M. D. Owen, 1990. « The rate and strength of byssal reattachment by blue mussel (*Mytilus edulis* L.) », *Can. J. Zool.*, 68, 2005-2009
- LEGEAY, A., A. Achard-Joris, M. Beaudrimont, J.-C. Massabuau et J.-P. Bourdineaud, 2005. « Impact of cadmium contamination and oxygenation levels on biochemical response in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* », *Aquat. Toxicol.* 74: 242-253
- LEINIÖ, S. et K. K. Lehtonen, 2005. « Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea », *Comp. Biochem. Phys.* 140C, 408-421
- LENS, L. et S. Van Dongen, 2000. « Fluctuating and directional asymmetry in natural bird populations exposed to different levels of habitat disturbance, as revealed by mixture analysis », *Ecol. Lett.*, 3, 516-522
- LEROY, P., A. Nicolas, M. Wellmann, T. Oster et G. Siest, 1993. « Evaluation of o-phthalaldehyde as bifunctional fluorogenic post-column reagent for glutathione in LC », *Chromatographia*, 36, 130-134
- LI, Y., J. G. Qin, C. A. Abbot, X. Li et K. Benkendorff, 2007. « Synergistic impacts of heat shock and spawning on the physiology and immune health of *Crassostrea gigas*: An explanation for summer mortality in Pacific oyster », *Am. J. Physiol. Reg. I*, 293, 2353-2362
- LINDQUIST S. et E. A. Craig, 1988. « The heat-shock proteins », *Annu. Rev. Biochem.*, 22, 631-677
- LOBEL, P.B. et D. A. Wright, 1982. « Total body zinc concentration and allometric growth ratios in *Mytilus edulis* collected from different shore levels », *Mar. Biol.*, 66, 231-236
- LOJDA, Z., R. Gossreau et T. H. Schiebler, 1979. « *Enzyme histochemistry : A laboratory Manual* », Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 340 p.
- LOWE, D. M., V. U. Fossato et M. H. Depledge, 1995a. « Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from Venice Lagoon: an in vitro study », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 129, 189-196
- LOWE, D. M., C. Soverchia et M. N. Moore, 1995b. « Lysosomal membrane responses in the blood and digestive cells of mussels experimentally exposed to fluoranthene », *Aquat. Toxicol.*, 33, 105-112
- LOWRY, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr et R. J. Randall, 1951. « Protein measurement with the Folin-Phenol reagents », *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275

- MADUREIRA, M. J., A. M. Picado, A. M. Ferreira, E. Mendonca et Y. Le Gal, 1993. « PCB contamination in the oyster *Crassostrea angulata*: effects on lipids and adenylate energetic charge » dans W. Sloof et H. de-Kruijf (eds.), « Proceedings of the Second European Conference on Ecotoxicology, 1993 », Vol. Suppl. Pts. 1-2
- MAGUIRE, J., 2003. « Quantifying stress in the scallop *Pecten maximus* in relation to aquaculture and dredging », Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003, p.67-83
- MAGUIRE, J. A., D. Cashmore et G. M. Burnell, 1999a. « The effect of transportation on the juvenile scallop *Pecten maximus* (L.) », *Aquacult. Res.*, 30, 325-333
- MAGUIRE, J. A., P. G. Fleury et G. M. Burnell, 1999b. « Some methods for quantifying quality in the scallop *Pecten maximus* L. », *J. Shellfish Res.*, 18, 59-66
- MAGUIRE, J. A., D. A. O'Connor et G. M. Burnell, 1999c. « An investigating into behavioural indicators of stress in juvenile scallops », *Aquacult. Int.*, 7, 169-177
- MAGUIRE, J. A., A. Coleman, S. Jenkins et G. M. Burnell, 2002a. « Effects of dredging on undersized scallops », *Fish. Res.*, 56, 155-165
- MAGUIRE, J. A., S. Jenkins et G. M. Burnell, 2002b. « Effects of repeated dredging and speed of tow on undersized scallops », *Fish. Res.*, 58, 367-377
- MAGUIRE, J. A., M. O'Donoghue, S. Jenkins, A. Brand et G. M. Burnell, 2002c. « Temporal and spatial variability in dredging induces stress in the great scallop *Pecten maximus* (L.) », *J. Shellfish Res.*, 21, 81-86
- MANDUZIO, H., T. Monsinjon, C. Galap, F. Leboulenger et B. Rocher, 2004. « Seasonal variations in antioxidant defences in blue mussels *Mytilus edulis* collected from a polluted area: major contributions in gills of an inducible isoform of Cu-Zn-superoxide dismutase and glutathione S-transferase », *Aquat. Toxicol.*, 70, 83-93
- MANN, R. et S. J. Glomb, 1978. « The effect of temperature on growth and gametogenesis in the Manila clam *Tapes japonica* », *Estuar. Coast. Mar. Sci.*, 6, 335-339
- MARKLUND, S. et G. Marklund, 1974. « Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase », *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474
- MARTIN, J. et I. N. H. White, 1991. « Fluorimetric determination of oxidised and reduced glutathione in cells and tissues by high-performance liquid chromatography following derivatization with dansyl chloride », *J. Chromatogr.*, 568, 219-225
- MARTIN, M., 1985. « State mussel watch: toxics surveillance in California », *Mar. Pollut. Bull.*, 16, 140-146
- MARTIN, M. et R. Severeid, 1984. « Mussel watch monitoring for the assessment of trace toxic contaminants in California marine waters » dans H. H. White (ed.), « Concepts in Marine Pollution Measurements », Maryland Sea Grant College, University of Maryland, 291-323
- MATTHIESSEN, G. C., 1960. « Observations on the ecology of the soft clam, *Mya arenaria* », *Limnol. Oceanogr.*, 5, 291-300
- MCCORD, J. M. et I. Fridovich, 1969. « Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocytes », *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055
- McFARLANE, R. B., 1981. « Alterations of adenine nucleotide metabolism in the Gulf killifish (*Fundulus grandis*) induced by low pH water », *Comp. Biochem. Physiol.*, 68B, 193-202
- MILLER, S. G., R. F. Leclerc et G. W. Erdos, 1990. « Identification and characterization of a testis-specific isoform of a chaperonin in a moth, *Heliothis virescens* », *J. Mol. Biol.*, 214, 407-422
- MINCHIN, D., H. Skjaeggstad, G. A. Haugum et O. Strand, 2000. « Righting and re-cessing ability of wild and native cultivated scallops », *Aquacult. Res.*, 31, 473-474
- MOAL, J., J. R. Le Coz, J. F. Samain et J. Y. Daniel, 1989. « Responses and adaptations of adenylate energy charge and digestive enzyme activities to tidal emersion of *Crassostrea gigas* population in Marennes-Oleron Bay », *Sci. Mar. Barc.*, 53, 699-704
- MOAL, J., J. R. Le Coz, J.-F. Samain et J. Y. Daniel, 1991. « Adenylate energy charge: a possible trophic index for management of oyster intensive aquaculture », *Comp. Biochem. Phys.*, 100C, 201-205
- MOESER, G. M., H. Leba et E. Carrington, 2006. « Seasonal influence of wave action on thread production in *Mytilus edulis* », *J. Exp. Biol.*, 209, 881-890
- MOLLER, A. P., 1997. « La nature préfère la symétrie », *La Recherche*, 304, 50-55
- MOORE, M. N., 1985. « Cellular responses to pollutants », *Mar. Poll. Bull.*, 16, 134-139
- MOORE, M. N., 1988. « Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environment and experimental exposure to xenobiotics », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 46, 81-89
- MORAGA, D., A.-L. la Meistertzheim, S. Tanguy-Royer, I. Boutet, A. Tanguy et A. Donval, 2005. « Stress response in Cu²⁺ and Cd²⁺ exposed oysters (*Crassostrea gigas*): An immunohistochemical approach », *Comp. Biochem. Phys.* 141C: 151 – 156
- MORIMOTO, R. I., 1991. « Heat shock: the role of transient inducible responses in cell damage, transformation and differentiation », *Cancer Cells*, 3, 295-301
- MYRAND, B., R. Tremblay et J.-M. Sévigny, 2002. « Selection against blue mussels (*Mytilus edulis* L.) homozygotes under various stressful conditions », *J. Hered.*, 93, 238-248
- NACCI, D., S. Nelson, W. Nerson et E. Jackim, 1992. « Application of the DNA alkaline unwinding assay to detect DNA strand breaks in marine bivalves », *Mar. Environ. Res.*, 33, 83-100
- NADEAU, M., X. Janssoone et H. Guderley, 2008. « Adaptation d'un outil de mesure de la vitalité du pédoncle par muscrométrie à des fins d'activités pectinicoles », MAPAQ, DIT, Rapport de R-D n° 162, 12 p.
- NELSON, W. G., 1990. « Use of the blue mussel, *Mytilus edulis*, in water quality toxicity testing and *in situ* marine biological monitoring » dans W. G. Landis et W. H. Van Der Schalie (eds.), « Aquatic Toxicology and Risk Assessment, Vol. 13 », ASTM, Philadelphia, 167-175
- NEUSCHWANDER-TERRI, B. A. et F. J. Roll, 1989. « Glutathione measurement by high-performance liquid chromatography separation and fluorimetric detection of the glutathione-orthophthalaldehyde adduct », *Anal. Biochem.*, 179, 236-241
- NEWELL, C. R., D. J. Wildish et B. A. MacDonald, 2001. « The effects of velocity and seston concentration on the exhalant siphon area, valve gape and filtration rate of the mussel *Mytilus edulis* », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 262, 91-111
- NOËL, D., E. Bachere et E. Mialhe, 1993. « Phagocytosis associated chemiluminescence of hemocytes in *Mytilus edulis* (Bivalvia) », *Dev. Comp. Immunol.*, 17, 483-493

- NOVER, L., 1991. « The heat shock response », CRC Press, Boca Raton
- OKUMUS, I. et H. P. Stirling, 1998. « Seasonal variations in the meat weight, condition index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs », *Aquaculture*, 159, 249-261
- OUBELLA, R., P. Maes, C. Paillard et M. Auffret, 1993. « Experimentally induced variation in hemocyte density for *Ruditapes philippinarum* and *R. decussates* (Mollusca, Bivalvia) », *Dis. Aquat. Org.*, 15, 193-197
- PAGLIA, D. E. et W. N. Valentine, 1967. « Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase », *J. Lab. Clin. Med.*, 70, 158-169
- PAOLETTI, F., D. Aldinucci, A. Mocali et A. Caparrini, 1986. « A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts », *Anal. Biochem.*, 154, 536-541
- PATRICK, S., N. Faury et P. Gouletquer, 2006. « Seasonal changes in carbohydrate metabolism and its relationship with summer mortality of Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) in Marennes-Oléron bay (France) », *Aquac.*, 252, 328-338
- PELHAM, H. R. B., 1990. « Functions of the hsp70 protein family: an overview », dans Morimoto, R.I., A. Tissieres et C. Georgopoulos (eds), « Stress proteins in biology and medicine », Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 287-299
- PELLERIN-MASSICOTTE, J., 1997. « Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) », *J. Rech. Océanographique*, 22, 91-98
- PERNET, F., R. Tremblay et E. Bourget, 2003. « Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition, Part II: larval rearing, competency and settlement », *J. Shellfish Res.*, 22, 377-388
- PERNET, F., R. Tremblay, C. Gionet et T. Landry, 2006. « Lipid remodeling in wild and selectively bred hard clams at low temperatures in relation to genetic and physiological parameters », *J. Exp. Biol.*, 209, 4663-4675
- PFITZENMEYER, H. T. et K. G. Drobeck, 1967. « Some factors influencing reburrowing activity of soft-shell clam, *Mya arenaria* », *Chesapeake Science*, 8, 193-199
- PIERSMA, T., Y. Verkuil et I. Tulp, 1994. « Resources for long-distance migration of knots *Calidris Canutus islandica* and *C. canutus*: how broad is the temporal exploitation of benthic prey in the western and eastern Wadden Sea? », *Oikos*, 71, 393-407
- PIPE, R. K., 1990. « Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel, *Mytilus edulis* », *Histochem. J.*, 22, 595-603
- PIPE, R. K., 1992. « Generation of reactive oxygen metabolites by the haemocytes of the mussel, *Mytilus edulis* », *Dev. Comp. Immunol.*, 16, 111-122
- POLAK, M., 2003. « Developmental instability: causes and consequences », Oxford University Press, New York.
- POUVREAU, S., Y. Bourles, S. Lefebvre, A. Gangnery et M. Alunno-Bruscia, 2006. « Application of a dynamic energy budget model to the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, reared under various environmental conditions », *J. Sea Res.*, 56, 156-167
- PRICE, H. A., 1982. « An analysis of factors determining seasonal variation in the byssal attachment strength of *Mytilus edulis* », *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 62, 147-155
- QIAN, Y. et R. W. Davies, 1994. « Differences in bioenergetic and life-history traits between two generations of *Nepheleopsis obscura* due to the prehistory of their parents », *Funct. Ecol.*, 8, 102-109
- RAFFIN, J. - P. et M. - T. Thébault, 1996. « Modelisation of coordinated changes of adenylate energy charge and ATP/ADP ratio : application to energy metabolism in invertebrate and vertebrate skeletal muscle », *C. R. Acad. Sci., Paris*, 319, 9-15
- RAINER, S. F., A. M. Ivanovici et V. A. Wadley, 1979. « Effect of reduced salinity on adenylate energy charge in three estuarine molluscs », *Mar. Biol.*, 54, 91-99
- RANDERATH, K., M. V. Reddy et R. C. Gupta, 1981. « ³²P-postlabelling tests for DNA damage », *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 78, 6126-6129
- RAY, M. et A. W. Stoner, 1994. « Experimental analysis of growth and survivorship in a marine gastropod aggregation: balancing growth with safety in numbers », *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 105, 47-59
- Renwantz, L., 1990. « Internal defense system of *Mytilus edulis* », dans G. B. Stephano (Ed.) « Neurobiology of *Mytilus edulis* », Manchester University Press, Angleterre, p. 256-275
- RETHÉ, B., J.-F. Masfarau, G. Keith, A. Devaux et G. Monod, 1997. « Biomarqueurs de génotoxicité chez les végétaux et les animaux » pp.185-208 dans L. Lagadic, T. Caquet, J.-C. Amiard, et F. Ramade (eds), « Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux », Masson, Paris, 419 p.
- RIBERA, D., J.-F. Narbone, M. Daubeze et X. Michel, 1989. « Characterisation, tissue distribution and sexual differences of some parameters related to lipid peroxidation in mussels », *Mar. Environ. Res.*, 28, 279-283
- RICE-EVANS, C. A., A. T. Diplock et M. C. R. Symons, 1991. « Techniques in free radical research » dans R. H. Burton et P. H. Van Knippenberg (eds.), « Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology », Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam
- RIISGÅRD, H. U., 2001. « On measurement of filtration rates in bivalves—the stony road to reliable data: review and interpretation », *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 211, 275–291
- RIISGÅRD, H. U., 2004. « Intercalibration of methods for measurement of bivalve filtration rates - a turning point », *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 276, 307-308
- RIISGÅRD, H. U., C. Kittner et D. F. Seerup, 2003. « Regulation of opening state and filtration rate in filter-feeding bivalves (*Cardium edule*, *Mytilus edulis*, *Mya arenaria*) in response to low algal concentration », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 284, 105–127
- RIISGARD, H. U., J. Lassen et C. Kittner, 2006. « Valve-gape response times in mussels (*Mytilus edulis*) - Effects of laboratory preceding-feeding conditions and in situ tidally induced variation in phytoplankton biomass », *J. Shellfish Res.*, 25, 901-911
- ROMBOUGH, P. J., 1994. « Energy partitioning during fish development: additive or compensatory allocation of energy to support growth? », *Funct. Ecol.*, 8, 178-186
- ROSS, G. M., T. J. McMillan, P. Wilcox et A. R. Collins, 1995. « The single cell microgel electrophoresis assay (comet assay): technical aspects and applications », *Mutation Res.*, 336, 57-60
- ROSS, N. W., E. E. Egbosimba, N. T. Brun, V. M. Bricelj, T. H. MacRae, J. M. Harding, C. Couturier et G. J. Parsons, 2003. « Development of biochemical indicators of stress responses for bivalves : recent studies on heat shock proteins and proteases », *Compte rendu des présentations et discussion de l'atelier de travail sur les indicateurs de stress chez les mollusques. Québec (Canada), 24 au 26 février 2003*, p.28-32

- RUFFIN, P., S. Demuyne, J. L. Hilbert et A. Dhainaut, 1994. « Stress protein in the polychaete annelid *Nereis diversicolor* induced by heat shock or cadmium exposure », *Biochimie*, 76, 423-427
- RYDBERG, B., 1975. « The rate of strand separation in alkali of DNA of irradiated mammalian cells », *Radiat. Res.*, 61, 274-285
- SALANKI, J. et L. Varanka, 1976. « Effects of copper and lead compounds on the activity of the fresh-water mussel », *Annal. Biol. Tihany*, 43, 21-27
- SAMAIN, J.-F. et H. McCombie, 2007. « Mortalités estivales de l'huître creuse *Crassostrea gigas* - Défi Morest », Ifremer, Morest, Versailles Cedex - France. 332 p.
- SAMAIN, J.-F., L. Dégremont, P. Soletchnik, J. Haure, E. Bédier, M. Ropert, J. Moal, A. Huvet, H. Bacca, H. Van Wormhoudt, M. Delaporte, K. Costil, S. Pouvreau, S. Lambert, V. Boulo, P. Soudant, J. L. Nicolas, F. Le Roux, T. Renault, B. Gagnaire, F. Gereth, I. Boutet, T. Burgeot et P. Boudry, 2007. « Genetically based resistance to summer mortality in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and its relationship with physiological, immunological characteristics and infection processes », *Aquac.*, 268, 227-243
- SAMI, S., M. Faisal et R. J. Huggett, 1992. « Alterations in cytometric characteristics of hemocytes from the American oyster *Crassostrea virginica* exposed to a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contaminated environment », *Mar. Biol.*, 113, 247-252
- SANDERS, B. M. et L. S. Martin, 1993. « Stress protein as biomarkers of contaminant exposure in archives environmental samples », *Sci. Total Environ.*, 139/140, 459-470
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, W. G. Nelson, D. K. Phelps et W. Welch, 1991. « Relationship between accumulation of a 60 kDa stress protein and scope-for-growth in *Mytilus edulis* exposed to a range of copper concentrations », *Mar. Environ. Res.*, 31, 81-97
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, S. R. Howe, W. G. Nelson, E. S. Hegre et D. K. Phelps, 1994a. « Tissue-specific differences in accumulations of stress proteins in *Mytilus edulis* exposed to a range of copper concentrations », *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 125, 206-213
- SANDERS, B. M., L. S. Martin, P. A. Nakagawa, D. A. Hunter, S. Miller et S. J. Ullrich, 1994b. « Specific cross-reactivity of antibodies raised against two major stress proteins, stress 70 and chaperonin 60, in diverse species », *Environ. Toxicol. Chem.*, 13, 1241-1249
- SASTRY, A. N. et N. J. Blake, 1971. « Regulation of gonad development in the bay scallop, *Aequipecten irradians* Lamarck », *Biological Bulletin. Marine Biological Laboratory*, 140, 466-471
- SAUVÉ, S., P. Brousseau, J. Pellerin, Y. Morin, L. Sénécal, P. Goudreau et M. Fournier, 2002. « Phagocytic activity of marine and fresh-water bivalves : in vitro exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn) », *Aquatic Toxicology*, 58, 189-200
- SCHOLNICK, D. A., 1995. « Sensitivity of metabolic rate, growth and fecundity of tadpole shrimp *Triops longicaudatus* to environment variation », *Biol. Bull.*, 189, 22-28
- SELYE, H., 1976. « Stress in health and disease », Butterworth Publishers, Boston
- SHAMSELDIN, A. A., J. S. Clegg, C. S. Friedman, G. N. Cherr et M. C. Pillai, 1997. « Induced thermotolerance in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* », *J. Shellfish Res.*, 16, 487-491
- SHUGAR, D., 1952. « Measurement of lysozyme activity and the ultraviolet inactivation of lysozyme », *Biochim. Biophys. Acta*, 8, 302-308
- SHUGART, L. R., 1988. « An alkaline unwinding assay for the detection of DNA damage in aquatic organisms », *Mar. Environ. Res.*, 24-321-325
- SHYKOFF, J. A. et A. P. Moller, 1999. « Fitness and asymmetry under different environmental conditions in the barn swallows », *Oikos*, 86, 152-158
- SINGH, N. P., McCoy, R. R. Tice et E. L. Schneider, 1988. « A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells », *Exp. Cell. Res.*, 175, 184-191
- SLUYTS, H., F. Van Hoof, A. Cornet et J. Paulussen, 1996. « A dynamic new alarm system for use in biological early warning systems », *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 1317-1323
- SOLÉ, M., C. Porte et J. Albaiges, 1995. « Seasonal variation in the mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis* », *Environ. Toxicol. Chem.*, 14, 157-164
- SOUDANT, P., C. Paillard, G. Choquet, C. Lambert, H. I. Reid, A. Marhic, L. Donaghy et T. H. Birkbeck, 2004. « Impact of season and rearing site on the physiological and immunological parameters of the Manila clam *Venerupis* (= *Tapes*, = *Ruditapes*) *philippinarum* », *Aquaculture*, 229, 401-418
- STAIKOU, A. et M. Lazaridou-Dimitriadou, 1989. « Feeding experiments on and energy flux in a natural population of the edible snail *Helix lucorum* L. (Gastropoda: Pulmonata: Stylommatophora in Greece », *Malacologia*, 31, 217-227
- STEINERT, S. A. et G. V. Pickwell, 1988. « Expression of heat shock proteins and metalloprotein in mussels exposed to heat stress and metal ion challenge », *International Symposium on Response of Marine Organisms to Pollutants*, *Mar., Env., Res.*, 24, 211-214
- STEINERT, S. A. et G. V. Pickwell, 1993. « Induction of SP 70 proteins in mussels by ingestion of tributyltin », *Mar. Environ. Res.*, 35, 89-93
- STEPHENSON, R. R. et D. Taylor, 1975. « The influence of EDTA on the mortality and burrowing activity of the clam (*Venerupis decussata*) exposed to sub lethal concentrations of copper », *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 14, 304-308
- STICKLE, W. B. et T. D. Sabourin, 1979. « Effects of salinity on the respiration and heart rate of the common mussel, *Mytilus edulis*, and the black chiton, *Katherina tunicate* (Wood) », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 41, 252-268
- SUKHOTIN, A. A., D. L. Lajus et P. A. Lesin, 2003. « Influence of age and size on pumping activity and stress resistance in the marine bivalve *Mytilus edulis* L. », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 284, 129-144
- SURESH, K. et A. Mohandas, 1990. « Effect of sublethal concentrations of copper on hemocyte number in bivalves », *J. Invertebr. Pathol.*, 55, 325-331
- TALLQVIST, M., 2001. « Burrowing behaviour of the Baltic clam *Macoma balthica*: effects of sediment type, hypoxia and predator presence », *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 212, 183-191
- TISCAR, P. G., F. Marsilio, M. tempesta et A. Gatti, 1996. « Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) heat shock proteins 70 (HSPs70) production in hemocytes exposed to *Escherichia coli* », *Bollettino Società di Patologia Ittica*, 8, 31-39
- TORREILLES, J., M.-C. Guérin et P. Roch, 1996. « Espèces oxygénées réactives et systèmes de défense des bivalves marins », *C. R. Acad. Sci. Paris, série D*, 319, 209-218
- TREMBLAY, R. et J. Pellerin-Massicotte, 1997. « Effect of the tidal cycle on lysosomal membrane stability in the digestive gland of *Mya arenaria* and *Mytilus edulis* L. », *Comp. Biochem. Physiol.*, 117A, 99-104
- TREMBLAY, R., B. Myrand et H. Guderley, 1998a. « Temporal variation of lysosomal capacities in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.) to summer mortality », *Mar. Biol.*, 132, 641-649

- TREMBLAY, R., B. Myrand, J.-M. Sévigny, P. Blier et H. Guderley, 1998b. « Bioenergetic and genetic parameters in relation to susceptibility of blue mussels, *Mytilus edulis* (L.) to summer mortality », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 221, 27-58
- TYURIN, A.N. 1991. « Behavioural reactions of the scallop, *Mizuhopecten yessoensis*, and the mussel, *Crenomytilus grayanus*, to reduced salinity and oxygen and exposure to synthetic detergents », *J. Hydro Biol.*, 24, 13-19
- VAN Noorden, D. J. F. et R. G. Butcher, 1986. « Enzyme reaction rate studies in electromotor neurons of the weakly electric fish *Apteronotus leptorhynchus* », *Histochem. J.*, 21, 609-671
- VAN Winkle Jr., W., 1970. « Effect of environmental factors on byssal thread formation », *Mar. Biol.*, 7, 143-148
- VEDEL, A. et H. U. Riisgard, 1993. « Filter-feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*: growth and bioenergetics », *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 100, 145-152
- VELDHUIZEN-TSOERKAN, M. B., D. A. Holwerda et D. I. Zandee, 1991. « Anoxic survival time and metabolic parameters as stress indices in sea mussels exposed to cadmium or polychlorinated biphenyls », *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, 259-265
- VIARENGO, A., M. Pertica, L. Canesi, R. Accomando, G. Mancinelli et M. Orunesu, 1989. « Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age group exposed to anaerobic and aerobic conditions », *Mar. Environ. Res.*, 28, 291-295
- VIARENGO, A., L. Canesi, M. Pertica, D. R. Livingstone et M. Orunesu, 1991a. « Age-related lipid peroxidation in the digestive gland of mussels: the role of the antioxidant defense systems », *Experientia*, 47, 454-457
- VIARENGO, A., L. Canesi, M. Pertica et D. R. Livingstone, 1991b. « Seasonal variations in the antioxidant defence systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels », *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 187-190
- WENDEL, A., 1981. « Glutathione peroxydase » dans W. B. Jakoby (ed.), « *Methods in Enzymology*, Vol. 77 », Academic Press, San Diego, 325-332
- WIDDOWS, J., 1978. « Physiological indices of stress in *M. edulis* », *J. Mar. Biol. Ass., U. K.*, 58, 125-142
- WIDDOWS, J. et B. L. Bayne, 1971. « Temperature acclimatation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget », *J. Mar. Biol. Ass., U. K.*, 51, 827-843
- WIDDOWS, J. et J. M. Shick, 1985. « Physiological responses of *Mytilus edulis* and *Cardium edule* to aerial exposure », *Mar. Biol.*, 85, 217-232
- WIDDOWS, J. et D. Johnson, 1988. « Physiological energetics of *Mytilus edulis* : Scope for growth », *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 46, 113-121
- WIDDOWS, J. et P. Donkin, 1991. « Role of physiological energetics in ecotoxicology », *Comp. Biochem. Physiol.*, 100C, 69-75
- WIDDOWS, J. et D. S. Page, 1992. « Effects of tributyltin and dibutyltin on the physiological energetics of *Mytilus edulis* », *Mar. Environ. Res.*, 35, 233-249
- Bligh, E. G. et W. J. Dyer, 1959. « A rapid method of total lipid extraction and purification », *Can. J. Biochem.*, 37, 911-915
- WIDDOWS, J., D. K. Phelps et W. Galloway, 1981. « Measurements of physiological condition of mussels transplanted along a pollution gradient in Narragansett Bay », *Mar. Environ. Res.*, 4, 181-194
- WIDDOWS, J., T. Bakke, B. L. Bayne, P. Donkin, D. R. Livingstone, D. M. Lowe, M. N. Moore, S. V. Evans et S. L. Moore, 1982. « Responses of *Mytilus edulis* on exposure to the water accommodated fraction of North Sea oil », *Mar. Biol.*, 67, 15-31
- WIDDOWS, J., P. Donkin et S. V. Evans, 1985. « Recovery of *Mytilus edulis* L from chronic oil exposure », *Mar. Environ. Res.*, 17, 250-253
- WIDDOWS, J., P. Donkin, P. N. Salked et S. V. Evans, 1987. « Measurement of scope for growth and tissue hydrocarbon concentrations of mussels (*Mytilus edulis*) at sites in the vicinity of the Sullom Voe oil terminal: a case study », dans W. J. Van Den Brink et J. Kuiper (eds.) « *Fate and Effects of Oil in Marine Ecosystems* », Martinus Nijhof, Dordrecht, 269-277
- WIDDOWS, J., K. A. Burns, N. R. Menon, D. S. Page et S. Soria, 1990. « Measurement of physiological energetics (scope for growth) and chemical contaminants in mussels (*Arca zebra*) transplanted along a contaminant gradient in Bermuda », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 138, 99-117
- WIJSMAN, T. C. M., 1976a. « ATP content and mortality in *Mytilus edulis* from different habitats in relation to anaerobiosis », *Neth. J. of Sea Res.*, 10, 140-148
- WIJSMAN, T. C. M., 1976b. « Adenosine phosphates and energy charge in different tissues of *Mytilus edulis* L. under aerobic and anaerobic conditions », *J. Comp. Physiol. Ser. B*, 107, 129-140
- YOUNG, G. A., 1985. « Byssus-thread formation by the mussel *Mytilus edulis*: effect of environmental factors », *Marine Ecology Progress Series*, 24, 261-271
- ZAROOGIAN, G. E., J. H. Gentile, J. F. Heltshe, M. Johnson et A. M. Ivanovici, 1982. « Applications of adenine nucleotid measurements for the evaluation of stress in *Mytilus edulis* and *Crassostrea virginica* », *Comp. Biochem. Physiol.*, 71B, 643-649
- ZWARTS, L. et J. H. Wanink, 1993. « How the food supply harvestable by waders in the Wadden Sea depends on the variation in energy density, body weight, biomass, burying depth and behaviour of tidal-flat invertebrates », *Neth. J. Sea Res.*, 31, 441-476
- ZWARTS, L., A.-M. Blomert, P. Spaak et B. De Vries, 1994. « Feeding radius, burying depth and siphon size of *Macoma balthica* and *Scrobicularia plana* », *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 183, 193-212

