



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID DE TLEMCEM**  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES  
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS



DÉPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET ENVIRENEMENT

LABORATOIRE : VALORISATIONS DES ACTIONS DE L'HOMME POUR LA PROTRCTION DE  
L'ENVIRENEMRNT ET APPLICATION EN SANTE PUBLIQUE

## MEMOIRE

Présenté par

**Melle BOUACHA Iness**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

*En*

**Filière**

*Hydrobiologie marine et continentale*

**Spécialité**

*Sciences de la Mer*

**Thème :**

**LA BIOLUMINESANCE DES ORGANISMES MARINS.**

**Cas du Calamars**

Soutenu le 30 juin 2022 devant le jury composé de :

Encadrant:	Mr. BENDIMERAD Med El Amine	Grade: M.C.A	Université Tlemcen
Présidente :	Melle. DAMERDJI Amina	Grade : Professeur	Université Tlemcen
Examineur :	MESTARI Mohamed	Grade : M.A.A	Université Tlemcen

**Année universitaire : 2021/2022**

# Remerciements

Ce travail a été réalisé afin de conclure mes 5 ans d'études supérieures et au but d'obtenir un diplôme de master professionnel

En Hydrobiologie marine et continentale

Tout d'abord, on remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné

L'inspiration, la volonté, la patience et le courage pour mener à bien ce travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes,

Qui m'ont généreusement apporté leur aide et leur soutien. Je tiens à en remercier

Quelques-uns en particulier.

Je tiens à remercier mon encadreur,

**Mr. BENDIMERAD Mohammed El Amine**, Maître de Conférences à l'Université de Tlemcen, Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Madame **DAMARDJI Amina**, Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie,

Université Abou Bekr belkaid- Tlemcen,

Pour l'honneur qu'elle nous fait à présider le jury de ce mémoire.

Soyez assuré de ma gratitude et de mon profond respect.

Monsieur **MESTARI Mohamed**, Maître-assistant à l'université de Tlemcen

D'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude a tous celui qui ont sacrifié pour  
m'offrir

les conditions propices à ma réussite :

A Ma très précieuse, chaleureuse et aimable mère, à qui je dois la réussite, pour  
l'éducation qu'elle m'a prodiguée, avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices  
qu'elle a consentis à mon égard, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseigné depuis mon  
enfance. Ce travail est le fruit de tes efforts, de tes prières et de tes encouragements, et ma  
profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je  
puisse t'offrir.

A Mon très cher père, première école de mon existence qui m'a inculqué de vraies valeurs  
qui m'ont permis d'être où j'en suis aujourd'hui.

Ce travail est pour moi la consécration de tous les efforts que tu as entrepris à mon  
égard, il te prouve ma reconnaissance et mon amour.

A vous mes frères Youssef, Youssra. A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A Benzineb.H ancienne étudiante du Département de biologie pour son immense aide, ces  
encouragements ces conseille et bien sur son amitié, Je tiens à exprimer ma sincère gratitude  
pour cette personne qui été impliquée dans la bonne réalisation de ce projet.

A la mémoire de ma chère grand-mère paternelle fatma et mon grand -père maternelle Yahia,  
Que dieu le tout puissant vous accueille dans son éternel paradis et vous accorde sa clémence  
et sa miséricorde.

A ma grand-mère maternelle Fatéma, je te souhaite une bonne santé et une  
Longe vie.

A mes tante Mariem, Lila, ..... à mon oncle Mouhammed, et en particulier ma tante préféré  
Malika qui m'a aider et supporter et encourager dans le meilleur et le pire.

A mes cousins et cousines

A tous mes amis pour leur soutien moral.

## Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique.....	12
I. Présentations d'espèce étudiée : Calamar (Teuthida).....	12
1. Anatomie et taxonomie.....	12
2. Répartition biologique, habitat et migration .....	14
3. Cycle de vie et de reproductions .....	14
a. Cycle de vie.....	15
b. Reproductions et ponte .....	16
c. Développement embryonnaire .....	18
d. Maturation.....	18
4. Système cardiovasculaire et extracteur.....	19
5. Appareil digestif et alimentation .....	20
6. Système nerveux .....	21
7. Locomotion et moyens de défense .....	22
II. La biologie de la bioluminescence en mer.....	23
1. Phénomènes de bioluminescence marine.....	24
2. Historique de bioluminescence et les êtres lumineux .....	24
3. Les fonctions et le besoin de la bioluminescence.....	24
4. Applications de la bioluminescence .....	25
III. La Relation symbiotique entre le Calamar et <i>Vibrio. fischeri</i> .....	26
1. Présentations de la bactérie marine <i>Vibrio. fischeri</i> .....	26
2. Quorum Sensing :.....	27
a. Histoire : .....	27
b. Définition du Quorum Sensing.....	27
c. Quorum Sensing chez <i>Vibrio- fischeri</i> .....	28
3. Dynamique de colonisation et développement.....	28
4. Dynamique de Symbiose calamar, <i>Vibrio- fischeri</i> .....	29
5. Mécanisme d'émissions de la bioluminescence.....	31
Deuxième partie : Matériels et méthodes .....	33
I. Echantillonnage.....	33
II. Mise en culture.....	33
III. Identification des souches .....	34

1. Caractérisation phénotypique.....	34
Examen macroscopique.....	34
a. Évaluation de la luminescence .....	34
b. Teste de biofilm.....	35
Examen microscopique .....	35
a. Coloration de gramme .....	36
2. Caractérisation physiologique.....	36
a. Teste de PH .....	36
b. La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl.....	36
3. Caractérisation biochimique .....	36
a. Profil fermentaire (fermentation des sucres) .....	36
b. Test de mobilité .....	36
c. Teste d'oxydase.....	37
d. Test de la catalase .....	37
e. Le MRVP (rouge de méthyle, Voges-Proskauer).....	37
f. Test de l'indole et d'urée .....	37
g. TCBS (Thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose).....	37
4. Caractérisation génotypique.....	38
a. Un séquençage du gène de l'ARNr 16S .....	38
b. Une PCR .....	38
Troisième partie : Résultats et discussion .....	39
I. Résultats .....	39
1. Caractérisation phénotypique.....	39
Examens macroscopiques.....	39
a. Évaluation de la luminescence .....	39
b. Teste de biofilm.....	40
Examen microscopique .....	40
a. Coloration de gramme.....	40
2. Caractérisation physiologique.....	40
a. Teste de PH .....	40
b. La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl.....	41
3. Caractérisation biochimique .....	41
4. Caractérisation génotypique.....	43
a. Un séquençage du gène de l'ARNr 16S et PCR .....	43
II. Discussion.....	43
• Discussions des travaux :.....	43

- Discussion générale : .....44

Conclusion.....46

Références bibliographiques :.....47

## LISTE DES ABREVIATIONS

**L.vul** : *Loligo vulgaris*

**V. fischeri** : *Vibrio. Fischeri*

Vibrio-sp : *Vibrio*-sans précisions

**Q.S** : Quorum Sensing

**%** : pourcentage

**°C** : Degré Celsius

**°D** : Degré Dornic

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**ARN** : Acide Ribonucléique

**ARNr** : Acide Ribonucléique ribosomique

**Cm** : Centimètre

**CO<sub>2</sub>** : Oxyde de carbone

**g** : gramme

**h** : Heure

**j** : Jours

**Kg** : Kilogramme

**l** : litre

**m** : mètre

**m/v** : mase /volume

**mg** : milligramme

**min** : minute

**ml** : millilitre

**mm** : millimètre

**Nacl** : Chlorure de sodium

**pH** : potentiel Hydrogène

**S** : Seconde

**t** : temps

**T°** : Température

**µm** : micro molaire

**TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Saccharose)**

**S1,S2 ,... ,S4** :Souches

**DO** : Densité optique

**μl**: micro litre

**RLU** : unités lumineuses relatives

**Nm** : nanomètre

**Rpm** : rotations par minute

**G x100** : grossissement x100

**PCR** : Polymerase Chain Reaction

**MR** : rouge de méthyle

**VP** : Voges-Proskauer

**SWC** : un milieu gélose à l'eau de mer

**NA** : milieu gélose nutritive

**LA** : gélose luminescente

± : plus au moins

## Table des figures

<b>Figure 1</b> . Coupe sagittale d'un céphalopode coléoïde généralisé. (Roger Hanlon et Mike Vecchione 1 October 2018)	12
<b>Figure 2</b> . <i>Loligo vulgaris</i> . Vue Dorsale (Muus .1959)	13
<b>Figure 3</b> . <i>Loligo vulgaris</i> Distribution géographique dans l'Atlantique Nord-Est et la Méditerranée. (Patrizia J et al 2015).	14
<b>Figure 4</b> . Le cycle annuel de <i>Loligo vulgaris</i> . (Peter B,Paul R, 2008)	15
<b>Figure 5</b> .Spermatophore de <i>Loligo</i> (Nesis, K.N. 1987).	16
<b>Figure 6</b> .Copulation chez le calmar <i>Loligo</i> (photographie de Robert F. Sisson)	16
<b>Figure 7</b> . Bras de l'hectocotyle, <i>Loligo vulgaris</i> (Nesis, K. N. 1987).	17
<b>Figure 8</b> . Masse d'œufs de <i>Loligo vulgaris</i> fixée <b>Figure 9</b> Masse d'œufs de <i>Loligo vulgaris</i> libre à	17
<b>Figure 10</b> . Les différentes périodes du développement embryonnaire (Fields, W Gordon)	18
<b>Figure 11</b> .Le système circulatoire et ces principaux organe et vaisseaux (Schipp 1987).	19
<b>Figure 12</b> .Vue latérale schématique du tube digestif du L.vul, vue de droite. (Harrison, F. W)	20
<b>Figure 13</b> .Coupe sagittale du cerveau du calmar <i>Loligo</i> (Roger H; 2018).	22
<b>Figure 14</b> de gauche à droite, photo réaliste qui montre le phénomène de camouflage, jeu de couleur et le rétro éclairage (Prise de Gide d'océans)	23
<b>Figure 15.a</b> ) vu microscopique de la bactérie , <i>Vibrio. fischeri</i> x76000. <b>b)</b> photo réelle d'une colonie de bioluminescence bactérie , <i>V. fischeri</i> . (Michael T. Madigan . et al , 2010).	26
<b>Figure 16</b> .La réaction biochimique catalysée par l'enzyme luciférase utilise le mononucléotide de flavine (FMNH <sub>2</sub> ) et un aldéhyde gras à longue chaîne pour générer la bioluminescence (Rani G, Namita G, 2021)	32
<b>Figure 17</b> .Bioluminescence produite par <i>Vibrio fischeri</i> en culture (Doberva et al., 2017)	34
<b>Figure 18</b> . Luminomètre Berthold Lumat 9508 (Olivier, 2021).	35
<b>Figure 19</b> . Mesure de la puissance lumineuse de chaque isolat bactérien en tant qu'unités lumineuses relatives, es souche de Jabalameli et al., 2015.	39
<b>Figure 20</b> .Quantification du biofilm produit par des bactéries isolées. Les densités optiques de souche de Jabalameli et al., 2015.	40
<b>Figure 21</b> .Effect de PH ajusté sur la luminance des bactérie luminescents (Ranjith Kumar, 2010).	41
<b>Figure 22</b> .Effect de différentes concentrations de NaCl sur la luminance des bactérie luminescent (Ranjith Kumar, 2010).	41

## Liste des tableaux

**Tableau 1.** résultat des teste appliquer sur les isolats des 3 études biochimique. ....41

## Introduction

La bioluminescence est une caractéristique fonctionnelle importante des organismes marins pour la communication visuelle. Même si cet élément naturel fascine depuis longtemps. Aristote fut le premier à le signaler, il reste à ce jour relativement méconnu. Or, des études récentes ont montré 75% des organismes dans les écosystèmes pélagiques émettre de la lumière pour trois fonctions : attirer une proie, permettre l'identification d'un prédateur pour lui échapper, et l'identification d'individus d'une même espèce pour la reproduction (**Martini, Haddock, 2017**).

Les organismes bioluminescents sont divers et largement distribués dans les écosystèmes marins. Cette émission de lumière a été expliquée par *Vibrio. Fischeri*, une bactérie marine qui contrôle les gènes de la bioluminescence lors d'une association avec un organisme marin.

Le calmar *Loligo vulgaris* pris comme cas d'étude dans ce travail, recrute des populations de *Vibrio. Fischeri* pour établir une symbiose bénéfique de leur bioluminescence pendant plusieurs décennies, Il est donc important d'étudier et comprendre cette dynamique symbiose, les mécanismes des émissions lumineuse résultante et précisément confirmer la bactérie responsable.

Suite aux situations difficiles de cette année 2021 et de la pandémie du Covid-19, la partie pratique sur terrain, ainsi que les différentes sorties en mer, de jour comme de nuit, nécessaires pour ce type de travail de recherche, n'ont pas pu être réalisées, nous avons orienté notre travail sur la réalisation d'une synthèse des trois articles portant sur la Bioluminescence des organismes marins cas du calamar (*Loligo vulgaris*) et *Vibrio. Fischeri*.

## Première partie : Synthèse bibliographique

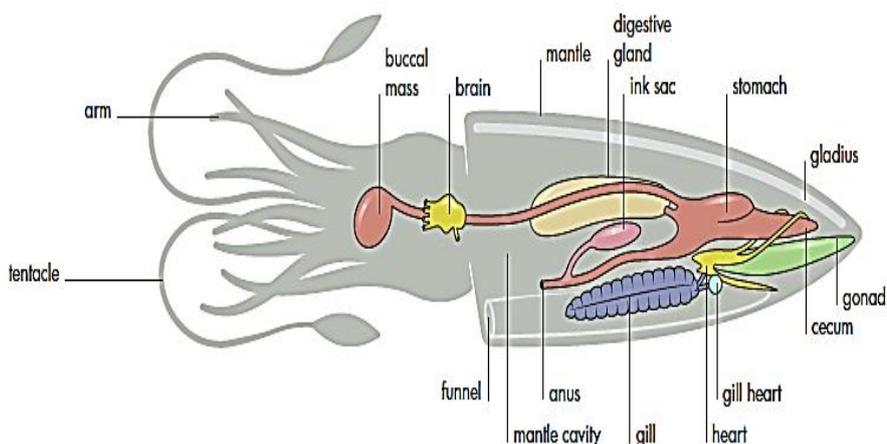
### I. Présentations d'espèce étudiée : Calamar (Teuthida)

De la province néritique du littoral au domaine pélagique hauturier les océans et les mers du monde témoignent un succès évolutif des Mollusque Céphalopodes qui sont apparus à la période cambrienne lorsque les mollusques se sont adaptés à la vie dans l'habitat pélagique. Deux fois, une fois au cours de l'ère paléozoïque et une fois au cours du mésozoïque. Ils ont subi des épisodes de radiation adaptative résultant de la formation de nombreuses espèces. La plupart des biotopes marines de la surface jusqu'aux profondeurs de 7000 mètres sont colonisées par 700 espèces appartenant à la classe Céphalopodes (**Mangold et Boletzky, 1989**).

Cette dernière est subdivisée en deux sous-classes : les Coleoidea possèdent une coquille interne et une paire de branchies, les Nautiloidea possèdent une coquille externe et deux paires de branchies. Coleoidea a deux principaux groupes, les octopodes à huit bras et les décapodes huit bras et deux tentacules dits « préhenseurs ». Au sein des Coleoidea décapodes, nous retrouvons le calamar *Loligo vulgaris* qui est notre espèce étudiée (**Jereb et Roper 2006**).

#### 1. Anatomie et taxonomie

Le Calamar (teuthida) du genre *Loligo vulgaris* est un céphalopode en grec (Kephala : tête ; podos : pied) signifie tête fusionnée avec les pieds. Cette espèce est constituée d'un ensemble de 8 bras, équipés de deux rangées de ventouses d'une taille variable et de deux tentacules extensibles plus longues à 4 rangées de ventouses ont peu les visionner uniquement lors de la capture de proies (**Catherine, 2006**).



**Figure 1 . Coupe sagittale d'un céphalopode coléoïde généralisé. (Roger Hanlon et Mike Vecchione 1 October 2018)**

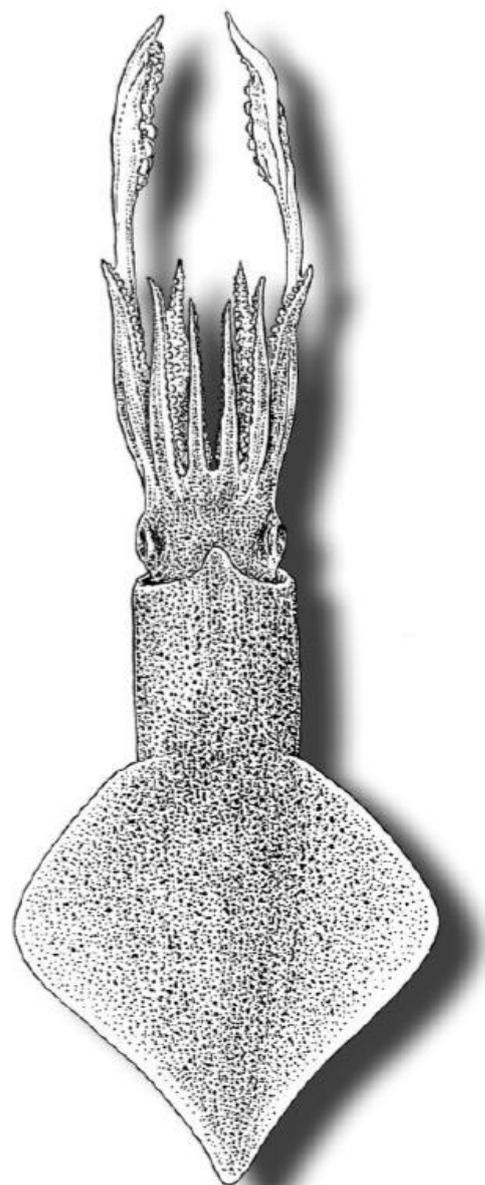
En ce qui concerne sa tête, située à l'extrémité antérieure fonctionnelle, comprend la bouche, l'intestin antérieur, la radula et le cerveau. Du côté dorsal, le pied devient un appendice préhensile (bras ou tentacules) flexibles, qui entourent la bouche. Une partie ventrale du pied forme un siphon tubulaire, où entonnoir, sortant

de la cavité du manteau et la cavité palléale entéroventrale contient une paire de branchies, le Corps de 2.3 Kg long et musclé en forme de torpille, avec deux nageoires triangulaires de dos (Fig.1), se combinent pour former un losange couvrant les 2/3 du manteau qui est d'une longueur maximale de 64 cm (male) et 48.5 cm (femelles) (Catherine, 2006).

Ce céphalopode n'a pas de coque protectrice, mais une lame cartilagineuse très fine qui prend la forme d'une épée ou d'une « plume ». Le corps du calamar peut mesurer jusqu'à 50 cm de longueur, sa couleur blanche rosâtre avec des taches plus ou moins rouge-violet-brun dépend de deux facteurs : habitat et nourriture (Catherine, 2006).

Sa position systématique Dans le règne animal est la suivante :

Règne :	Animalia	
Phylum :	Mollusca	
Classe :	Cephalopoda	Cuvier, 1797
Sous-classe :	Coleoidea	Bather, 1888
Cohorte :	Neocoleoidea	Haas, 1997
Super-ordre :	Decapodiformes	Young et al.,1998
Ordre :	Teuthida	Naef, 1916
Sous-ordre :	Myopsina	Orbigny, 1841
Famille :	Loliginidae	Lesueur, 1821
Genre :	Loligo	Lamarck, 1798
Espèce :	<i>Loligo vulgaris</i> .	

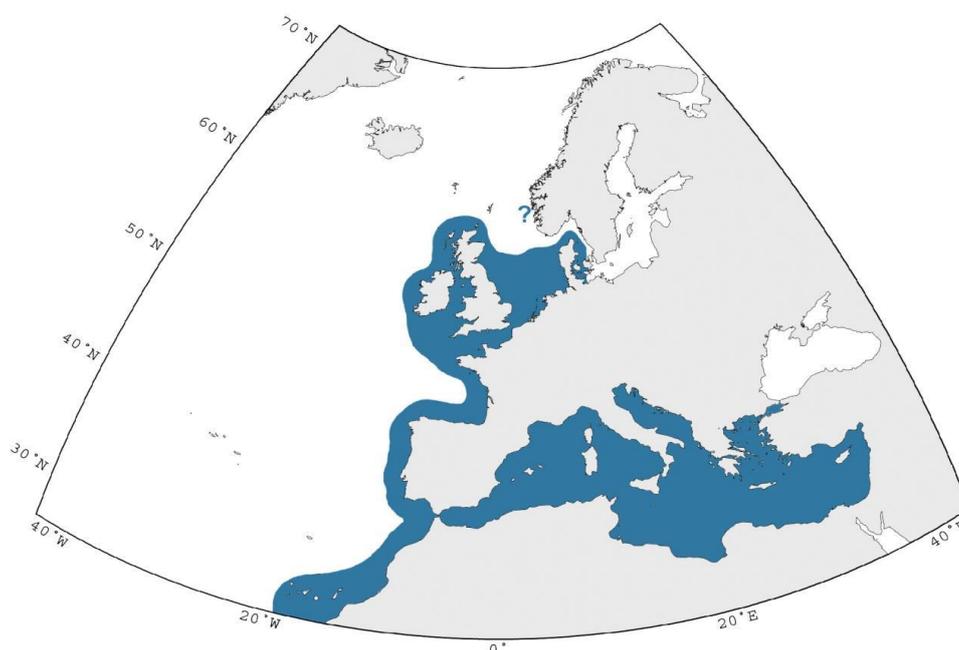


**Figure 2 .*Loligo vulgaris*. Vue Dorsale (Muus .1959)**

## 2. Répartition biologique, habitat et migration

Le calamar *Loligo vulgaris* Lamarck, 1798, s'étend de la mer Méditerranée à l'océan Atlantique jusqu'à l'ouest de la mer Baltique, Bassin Manche, Mer du Nord et Océan Indien, rare en mer du nord et carrément absent en mer Noire et la mer Baltique (**Guedioura, 2017**).

Ce mollusque marin invertébré n'est pas une espèce marine néritique mais plutôt une espèce grégaire en mouvement constant, il alterne des périodes de migrations verticales quotidiennes afin de trouver des proies et pendant la saison estivale migre vers les eaux côtières pour se reproduire. C'est une espèce semi-pélagique qui se trouve au large des côtes algériennes à 20-30 et 250 m de profondeur, surtout dans la région centrale entre 35 et 50 m. Le calamar semble avoir une distribution bathymétrique plus profonde jusqu'à 550 m préférentiellement celle à sable grossiers tout au large des côtes algériennes (**Guedioura, 2017**).



**Figure 3** .*Loligo vulgaris* Distribution géographique dans l'Atlantique Nord-Est et la Méditerranée. (**Patrizia et al., 2015**).

## 3. Cycle de vie et de reproductions

Les céphalopodes coléoïdes vivants sont des reproducteurs monocycliques, à une seule saison. Ils peuvent produire leurs œufs en lots successifs au cours d'une même saison, mais il n'existe aucun cas connu d'individus se reproduisant à plusieurs reprises au cours de saisons successives. Leur durée de vie est courte, < 1-2 ans dans la plupart des cas, seules quelques espèces exceptionnellement grandes ou vivant en eau froides vivent plus longtemps. Mais les généralisations sont basées sur la connaissance de quelques espèces de certaines familles. Au sein d'une même espèce, il peut y avoir plusieurs groupes reproducteurs, et il existe des preuves de l'alternance de cycles de vie à longue et courte génération. Chez ces espèces, la partie précoce de la population reproductrice d'une année donne naissance à une descendance qui se reproduit l'année suivante, la descendance de ceux qui se reproduisent tard dans la saison peut ne pas être mature à la saison de reproduction suivante, mais contribue aux reproducteurs précoces de l'année suivante. (**Peter, Paul, 2008**).

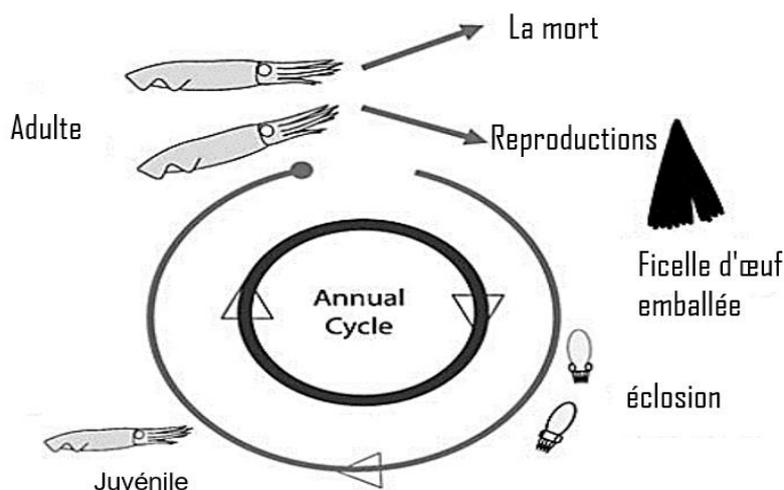
Les cycles de vie en réponse aux conditions environnementales résultent des variations dans la durée du développement, le taux de croissance, le moment de la reproduction et le mode de ponte. Il existe généralement des migrations annuelles entre les zones de reproduction et les zones d'alimentation, mais les informations sur les migrations de retour présumées sont limitées. (Peter, Paul, 2008)

### a. Cycle de vie

Les cycles de vie des organismes sont d'un intérêt central pour la théorie de l'écologie et de l'évolution, et sont essentiels à la compréhension des interactions biologiques avec l'environnement. Le terme sémelparité a été proposé pour la première fois par **L.C. Cole (1954)** pour décrire la condition de se multiplier une seule fois au cours d'une vie, par opposition à l'itéroparité qui signifie la reproduction plus d'une fois au cours de la vie.

Les caractéristiques du cycle de vie des céphalopodes sont essentielles à l'interprétation d'une grande partie de leur écologie et revêtent une importance capitale pour l'évaluation des pêcheries. Il existe un grand nombre d'informations provenant d'études de terrain et de laboratoire sur lesquelles on peut fonder des généralisations sur le cycle de vie des céphalopodes (**Boyle, 1983**).

*L. vulgaris* peut vivre jusqu'à 4 ans selon les estimations basées sur l'analyse de longueur-fréquence (**Mangold, 1963a**). Cependant, les comptages des augmentations quotidiennes de croissance révèlent que la durée de vie est normalement d'environ 1 an, bien que des variations ont été rapportées. Des durées de vie légèrement plus longues (382 et 396 jours) chez les mâles des eaux galiciennes (**Rocha et Guerra, 1999**) et du plateau du Sahara occidental (**Arkhipkin, 1995**), où des durées de vie maximales de 15 mois ont été observées dans les eaux du nord-ouest du Portugal par **Moreno et al., en (1994)** pour les deux sexes. Il faut savoir que **Bettencourt et al., (1996)** et **Raya et al., (1999)** ont estimé des durées de vie plutôt plus courtes : 10 mois sur le plateau du Sahara occidental et 9 mois dans les eaux portugaises du sud, selon le cas Il n'est pas clair si cela reflète une différence biologique ou si les méthodologies sont partiellement ou totalement responsables.



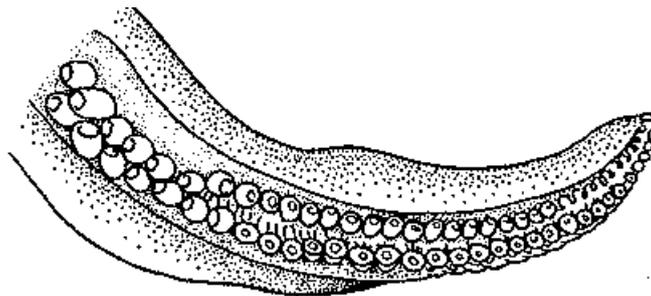
**Figure 4.** Le cycle annuel de *Loligo vulgaris*. (Peter, Paul, 2008)

## b. Reproductions et ponte

Toutes les espèces de céphalopodes dont le cycle de vie est connu ne sont soumises qu'à un seul cycle de reproduction (monocyclique), hormis les nautilus.

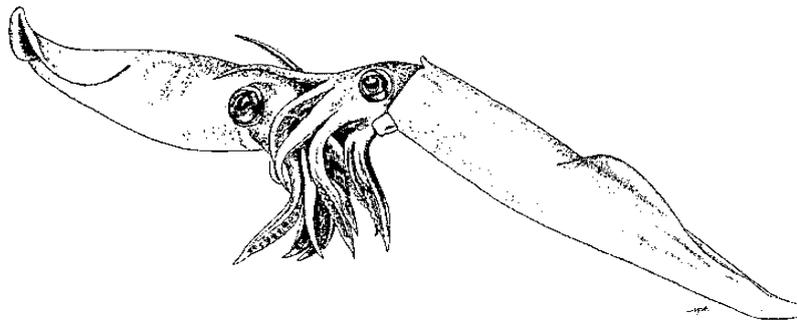
Contrairement à la plupart des mollusques de la même famille, il n'y a pas d'alternance de la condition reproductive de la pleine maturité et de la ponte à la période post-ponte, puis au retour à la maturité reproductive et à la libération des gamètes lors d'une saison suivante. Dans ce sens, tous les céphalopodes récents (Neocoleoidea) sont des reproducteurs d'une seule saison (**Edward, Richard, Robert, 2004**).

Les mécanismes de reproduction des céphalopodes sont assez semblables chez la seiche, le calmar et la



*Figure 6. Spermatophore de Loligo (Nesis, 1987).*

pieuvre. Les sexes sont toujours séparés, et aucun hermaphrodisme ou changement de sexe n'a été observé. La fécondation se déroule dans la cavité du manteau ou dans la mer à l'extérieur, mais dans tous les cas elle implique toujours la copulation et un transfert indirect de sperme par un des bras du mâle connu sous le nom



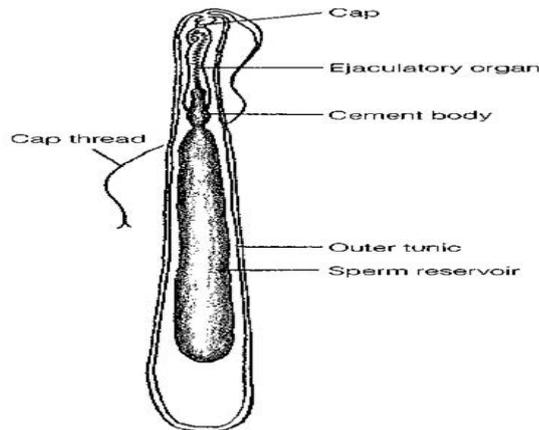
*Figure 5. Copulation chez le calmar Loligo (photographie de Robert)*

d'un hectocotyle (d'organe transporteur des spermatophores) (Fig. 5.) (**Edward, Richard, Robert, 2004**)

Avant la copulation, un céphalopode mâle fait diverses manifestations qui servent à l'identifier en tant que partenaire potentiel pour la femelle, par exemple la couleur rayée ou nageant au-dessus d'elle, ce spectacle peut mener à une confrontation avec les mâles intrus, le mâle le plus faible s'en va (**Edward, Richard, Robert, 2004**).

L'accouplement se produit lorsque les animaux nagent, le mâle agrippant la femelle de face (Fig. 6), l'hectocotyle ramasse les spermatophores dans le spermatophorique. Ensuite l'hectocotyle du *Loligo* est inséré dans le canal génital de la femelle pour déposer les spermatophores.

Le spermatophore contient une masse de spermatozoïdes (corde à sperme) corps en ciment, (Fig.7). Lors du transfert à la femelle le capuchon tombe et le réservoir de sperme est évaginé par la pression entre la tunique



**Figure 7.** Bras de l'hectocotyle, *Loligo vulgaris* (Nesis, 1987).

externe et le réservoir, ce réservoir à sperme se fixe à la paroi de la femelle par le corps cimenté (d'un organe éjaculatoire enroulé, et d'un capuchon auquel est attaché un fil). Les spermatozoïdes sont libérés et utilisés immédiatement pour féconder les œufs ou stockés jusqu'à ce que la ponte ait lieu à un moment ultérieur. (Edward, Richard, Robert, 2004).

Lorsque les œufs traversent la glande oviducale, ils sont enfermés dans une capsule de sécrétions gélatineuses. Ces œufs sont fécondés par des spermatozoïdes provenant des restes du spermatophore. Les œufs et leur enveloppe quittent la cavité palléale, souvent par un entonnoir formé par les bras. La femelle fixe les œufs fécondés au substrat en grappes ou en chapelets (Fig. 8-9). Un grand nombre de *Loligo* se réunissent pour copuler et frayer en même temps, une corde d'œufs se forme sur le fond. Les adultes meurent généralement peu après le frai contrairement aux femelles qui meurent après avoir couvé leurs œufs. Les masses d'œufs des calmars d'eau profonde peuvent flotter librement ou bien elle sera attachée (Edward, Richard, Robert, 2004).



**Figure 8 .** Masse d'œufs de *Loligo vulgaris* fixée à 40 m de profondeur, îles Columbretes, Méditerranée. Photo : **Jordi Chias**.



**Figure 9** Masse d'œufs de *Loligo vulgaris* libre à 40 m de profondeur, Berck, 0.France. Photo : **Picasa**.

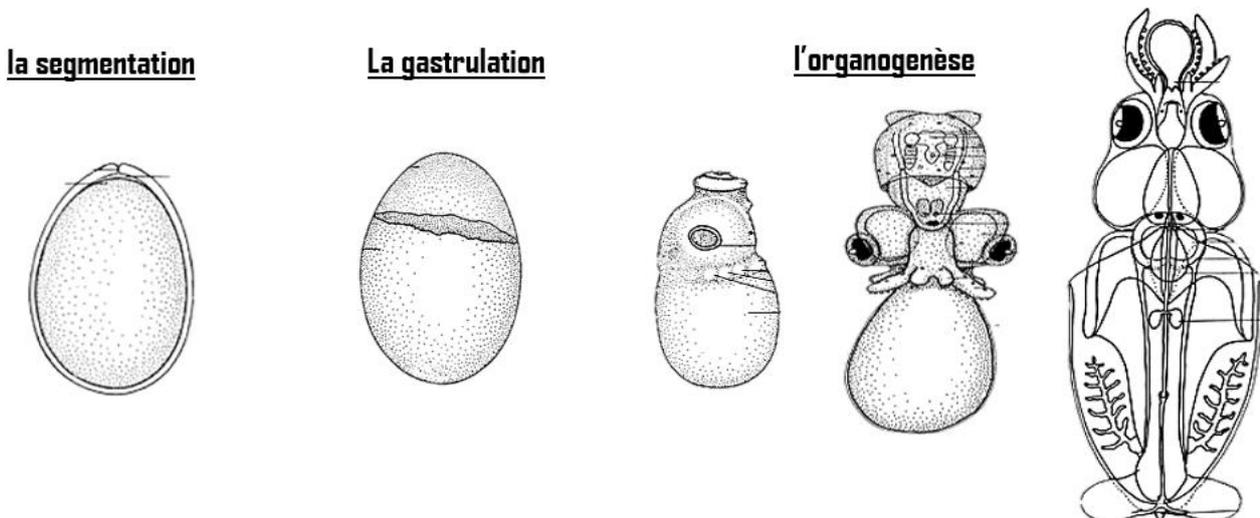
### c. Développement embryonnaire

Pas de stade larvaire, le développement est direct à la sortie de l'œuf, le juvénile est identique à l'adulte mais plus petit, il commence à se nourrir quelques jours après l'éclosion. L'étude du développement embryonnaire pour *loligo v.* est déterminée en différents stades, selon **Lemaire (1970)** le développement embryonnaire se divise en trois grandes périodes : la segmentation, la gastrulation et l'organogenèse.

**la segmentation** ou clivage, c'est la première phase de tout développement embryonnaire correspond aux divisions de la cellule-œuf puis de l'embryon, sans augmentation du volume (**Portmann et Bidder, 1928**).

**La gastrulation** correspond à la seconde phase de développement embryonnaire lors de laquelle la mitose est en continuel ralentissement (**Portmann et Bidder, 1928**).

**L'organogenèse**, c'est la dernière période, une étape qui représente la transformation que subit l'embryon. A ce stade les organes se forment jusqu'à avoir une larve qui éclos des jeunes identiques aux adultes, entrent en maturité et deviennent adultes (**Portmann et Bidder, 1928**)



**Figure 10 .** Les différentes périodes du développement embryonnaire (Fields, W Gordon)

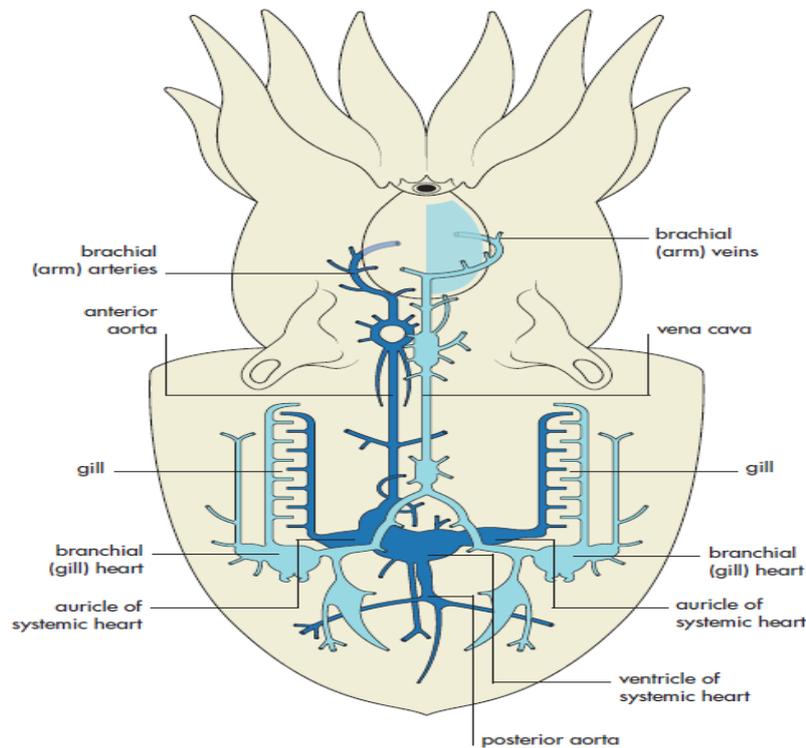
### d. Maturation

L'étude du cycle de vie complet entre la ponte et la maturation de la population adulte est entravée par les difficultés d'échantillonnage représentatif et d'identification des espèces aux premiers stades. Les céphalopodes dont les dépôts d'œufs sont fixés au fond de la mer (octopodes d'eaux peu profondes, seiches et calmars loliginidés) ont des œufs jaunes, bien protégés et des temps de développement longs. La maturation comme la croissance, est influencée par la température moyenne peut élever, un régime d'alimentation favorable (**Richard 1966 ; Rodhouse et Hatfield 1990**), ou la combinaison des deux ou d'autres facteurs. Les céphalopodes sont dans des masses gélatineuses à flottabilité neutre (familles Ommastrephidae, Gonatidae), produisent des œufs de petite taille avec des temps de développement relativement courts qui font partie des grandes migrations de la population assistées par les courants. Les céphalopodes n'ont pas de stades larvaires très différenciés. Les larves écloses et les premiers jeunes sont parfois appelés "paralarves",

puisque'ils sont morphologiquement identiques aux adultes. (Battaglia et Forest, 2001). Ils mesurent entre 6 à 9 mm longueur pour un poids de 0.053g à 0.180 g (Domingus *et al.*, 2001).

#### 4. Système cardiovasculaire et extracteur

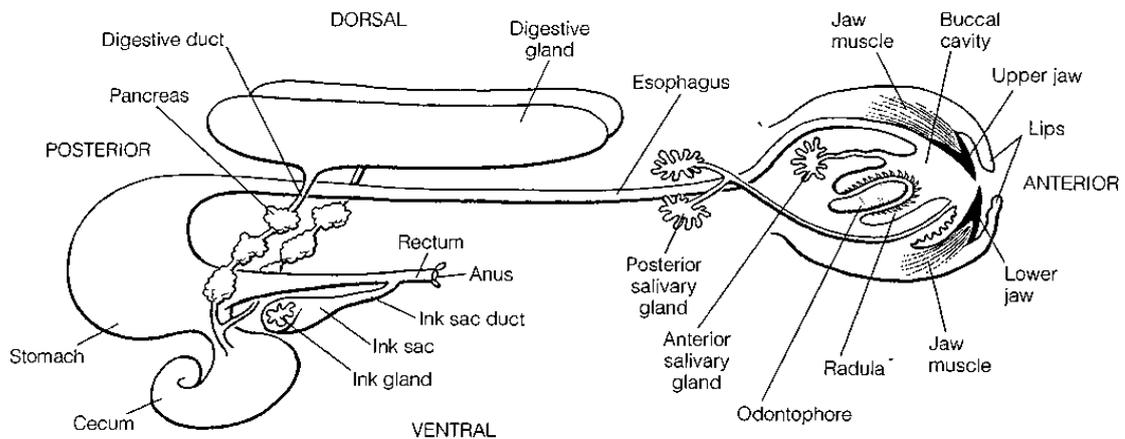
Une des caractéristiques de ce systèmes chez les calamars est le système "fermé". En d'autres termes, le sang est envoyé autour du corps à une pression relativement élevée à travers les artères, les capillaires et les veines plutôt que de baigner les organes dans du sang à basse pression circulant à travers une série de sinus ouverts. Le produit chimique qui lie l'oxygène pour la circulation est l'hémocyanine à base de cuivre, plutôt que l'hémoglobine, et elle est dissoute dans le fluide du sang et ne se trouve pas dans les cellules spéciales du corpuscule. La base de cuivre explique leur sang bleu. Le sang oxygéné circule des branchies vers le cœur, qui le pompe ensuite vers les différentes parties du corps par les artères, avec un retour par les veines. Le sang revient de la tête dans la veine céphalique, qui se divise ensuite en deux pour atteindre le cœur branchial. L'excrétion se fait dans les poches extérieures qui sont entourées d'un épithélium connu sous le nom de coelome néphridien déversant dans la cavité palléale par un pore. Le sang filtré est ensuite pompé par les cœurs branchiaux à travers l'ensemble des d'artères, de capillaires et de veines des plis, sous-plis et sous-sous-plis complexes qui augmentent considérablement la surface des branchies pour l'échange de gaz avec l'eau de la cavité du manteau. Ensuite, le cycle recommence (Saddikioui, 2019).



**Figure 11.** Le système circulatoire et ces principaux organe et vaisseaux (Schipp, 1987).

## 5. Appareil digestif et alimentation

Même si le système digestif des céphalopodes est variable, la plupart se conforment à un plan commun comme montrer dans figure ci-dessous (Fig. 26).



**Figure 12.** Vue latérale schématique du tube digestif du *L.vul*, vue de droite. (Harrison)

La bouche s'ouvre dans la cavité buccale et le long œsophage s'étend postérieurement de la cavité buccale à l'estomac. L'intestin est en forme de U, et il sort de l'estomac postérieur et se dirige vers l'anus. Plusieurs diverticules joignent l'intestin au niveau de la jonction œsophage- estomac-intestin. La bouche est entourée d'un anneau d'appendices Il s'ouvre dans la cavité buccale et est équipé d'une paire de grandes mâchoires dorsales et ventrales formant un bec de perroquet (Fig. 12). Les mâchoires dures, composées de protéines tannées et de chitine, sont dotées de muscles puissants. Elle s'ouvre dans la cavité buccale et est équipée d'une paire de grande partie de l'intérieur de la tête la mâchoires dorsales et ventrales formant un bec semblable à celui d'un perroquet. Le bec mord les gros morceaux de tissu de la proie, qui sont ensuite tirés dans la cavité buccale par la radula et avalés. La paroi postérieure de la cavité buccale porte une poche radulaire et une radula qui se compose d'une partie transversale et d'une partie centrale rangées longitudinales de dents. Deux paires de glandes salivaires et une glande submandibulaire se déversent dans la cavité buccale. Les glandes salivaires antérieures (Fig.12) se trouvent dans ou près de la masse buccale et sécrètent du mucus dans la cavité buccale ces glandes salivaires postérieures (glandes à venin) sont situées plus en arrière et sécrètent des enzymes protéolytiques, de la hyaluronidase et d'autres composés ce poison, pénètre dans le système hémostatique de la proie par les blessures infligées par le bec. Le long œsophage conduit les aliments de la cavité buccale vers l'estomac (Fig. 12). Ces parois contiennent des couches de muscles circulaires et longitudinaux, et le transport des aliments se fait par péristaltisme musculaire plutôt que par cils. L'œsophage est un tube étroit conduisant postérieurement à l'estomac musclé (Fig.12). Chez les céphalopodes, la digestion est entièrement extracellulaire se produit principalement dans l'estomac et le cæcum. La nourriture entre dans l'estomac par l'œsophage et est mélangée avec des enzymes provenant de la glande digestive et du pancréas, qui arrivent par

le canal digestif, au fur et à mesure de la digestion et de l'absorption. La plupart des absorptions se fait à travers les parois du cæcum comme chez le *Loligo vulgaris* (Edward E, Richard S, Robert D, 2004).

L'intestin sort de la paroi antérieure de l'estomac et passe antérieurement pour se vider via l'anus dans la cavité palléale. La partie distale de l'intestin est le rectum. La résorption des molécules de valeur se produit probablement dans l'intestin. Les déchets quittent l'anus à proximité de l'entonnoir et sont emportés par le jet d'eau exhalant. Les modifications digestives des céphalopodes, particulièrement les calmars, sont probablement des adaptations pour la digestion rapide requise par une vie pélagique active et un régime carnivore (Edward, Richard, Robert, 2004).

## 6. Système nerveux

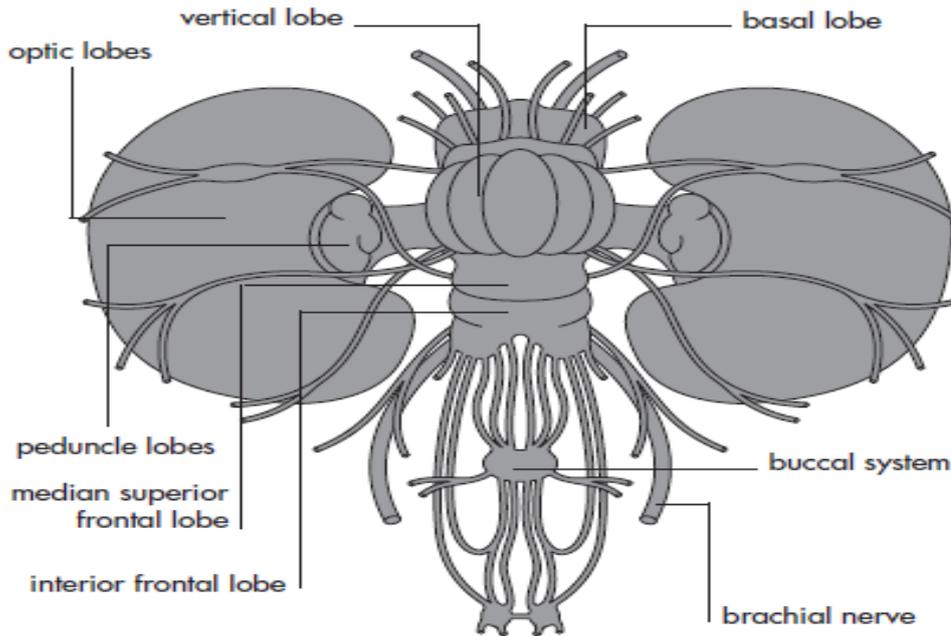
Le système nerveux central est fortement concentré, céphalisé, et symétrique bilatéralement plus grand, par rapport à la taille du corps, il est constitué de nombreux ganglions, de leurs connectifs, de leurs commissures et de leurs nerfs. Il est alimenté en informations par un système sensoriel très développé (Edward, Richard, Robert, 2004).

Le cerveau est un anneau nerveux qui encercle l'œsophage (Fig. 13), comme chez les autres mollusques, mais ses connectifs et commissures sont inhabituellement courts, de sorte que les ganglions, même les viscéraux, sont très proches les uns des autres (Fig. 13) il est divisé en une région supra-œsophagienne qui est principalement sensorielle et intégrative et une région sous-œsophagienne qui est principalement motrice (Edward, Richard, Robert, 2004).

Les deux ganglions cérébraux situés à l'arrière de l'œsophage, traitent les entrées sensorielles provenant des yeux, du statocyste et de l'épithélium olfactif et le statocyste sont enfermés dans capsules optiques cartilagineuses (Edward, Richard, Robert, 2004).

Les ganglions buccaux contrôlent les muscles de la masse buccale et sont reliés aux ganglions cérébraux par des connecteurs, les deux autres ganglions pédieux ventraux de l'œsophage sont reliés aux deux ganglions cérébraux par des connecteurs par une paire de conjonctives circumœsophagiennes, les quatre ganglions, leurs connecteurs et leurs commissures constituent l'anneau nerveux (Edward, Richard, Robert, 2004).

Les contractions ordinaires de natation et les contractions respiratoires de la musculature du manteau du manteau résultent d'impulsions transmises par un système de nombreux petits motoneurones rayonnant à partir des ganglions stellaires, un dans chaque côté de la paroi du manteau. Les mouvements d'évasion rapides des calmars, résultent d'un système hautement organisé qui provoque de puissantes contractions synchrones des muscles circulaires du manteau. Puisque la vitesse de transmission de l'influx nerveux est directement liée au diamètre du neurone (Edward, Richard, Robert, 2004).



**Figure 13.** Coupe sagittale du cerveau du calmar *Loligo* (Roger, 2018)

## 7. Locomotion et moyens de défense

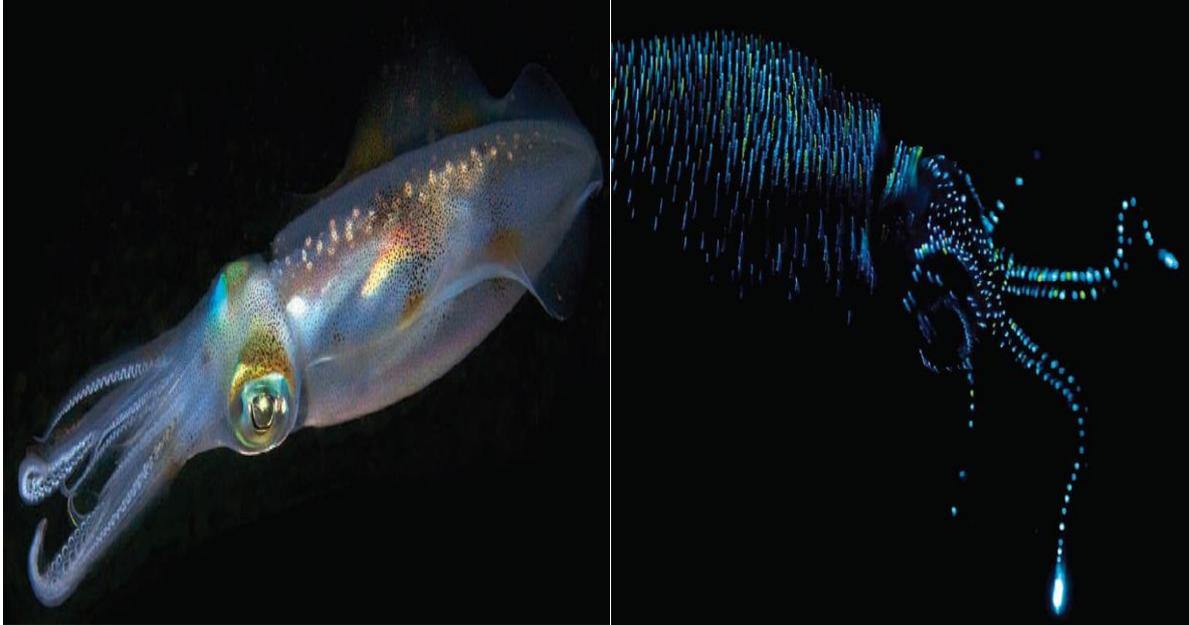
Les calmars peuvent utiliser différents types de camouflage, tels que le camouflage actif pour la correspondance avec le fond (en eau peu profonde) et la contre-illumination. Cela les aide à se protéger de leurs prédateurs et leur permet de s'approcher de leurs proies. (Edward, Richard, Robert, 2004).

La peau est recouverte de cellules pigmentaires contrôlables de différentes couleurs, qui adaptent la couleur du calmar à l'environnement. Le jeu de couleur peut également détourner l'attention de l'approche des proies des tentacules de calmar. La peau contient également des réflecteurs de lumière appelés cellules de l'iris et leucocytes, lorsqu'ils sont activés, produisent des modèles cutanés changeant de lumière polarisée en quelques millisecondes. Ce camouflage cutané peut remplir diverses fonctions, telles que la communication avec les calmars à proximité, la détection des proies, la navigation et la localisation lors de la chasse ou de la recherche d'un abri. Le contrôle neuronal des couleurs qui permettent des modifications rapides de l'irisation cutanée semble être modulé par des processus cholinergiques affectant les réflectances (Roger *et al.*, 2018).

Le rétro-éclairage est également utilisé par le calmar comme *Loligo vulgaris*, qui possède des bactéries symbiotiques (*vibrio fischeri*) qui produisent de la lumière pour l'aider à éviter les prédateurs nocturnes. Cette lumière brille à travers la peau du calmar sur la face inférieure elle est produite par un grand organe lumineux complexe à deux lobes situés dans la cavité du manteau du calmar (Roger *et al.*, 2018).

Ou bien il se protège en crachant un nuage d'encre pour distraire les prédateurs et leur donner une chance de s'échapper. Les glandes à encre et les sacs d'encre associés s'écoulent dans le rectum près de l'anus, permettant

au calmar de déverser rapidement de l'encre noire dans la cavité du manteau et l'eau environnante. L'encre est une suspension de particules de mélanine qui se disperse rapidement pour former un nuage sombre qui masque la fuite du calmar. Les poissons prédateurs peuvent également être dissuadés par les propriétés alcaloïdes de leurs émissions, qui interfèrent avec leurs chimiorécepteurs (Roger *et al.*, 2018).



**Figure 14** de gauche à droite, photo réaliste qui montre le phénomène de camouflage, jeu de couleur et le rétro éclairage (Prise de Gide d'océans)

Le calmar peut se déplacer de plusieurs manières différentes. Les mouvements lents sont obtenus en ondulant légèrement les nageoires musculaires latérales des deux côtés du torse qui propulsent l'animal vers l'avant. Un mode de mouvement plus courant qui permet un mouvement continu est le flux de jet, au cours duquel la contraction de la paroi musculaire de la cavité du manteau propulse le jet. (Edward, Richard, Robert, 2004).

Le jet lent est utilisé pour la locomotion ordinaire et la ventilation branchiale est réalisée en même temps. Les muscles circulaires de la paroi du manteau se contractent, provoquant la fermeture de la valve d'inspiration, l'ouverture de la valve d'expiration et le verrouillage du bord du manteau autour de la tête.

Le jet rapide est une réaction de fuite. Dans cette forme de locomotion, les muscles radiaux de la paroi du manteau sont impliqués, ainsi que les muscles circulaires, permettant à la cavité du manteau de s'hypergonfler (Edward, Richard, Robert, 2004).

## II. La biologie de la bioluminescence en mer

La bioluminescence est une caractéristique fonctionnelle importante des organismes marins pour la communication visuelle. Si cet élément naturel fascine depuis longtemps, il reste à ce jour relativement méconnu. Or, des études récentes ont montré que la bioluminescence remplissait au moins trois fonctions :

attirer une proie, permettre l'identification d'un prédateur pour lui échapper, et l'identification d'individus d'une même espèce pour la reproduction. **(Martini et Haddock, 2017).**

Une étude de 2017 conduite par l'institut de recherche de l'aquarium de la baie de Monterey (MBARI) a permis de montrer que, dans les écosystèmes pélagiques, c'est-à-dire les habitats des animaux vivant en pleine mer, plus de 75% des organismes individuels pouvaient émettre de la lumière dans les écosystèmes benthiques (relatifs aux fonds marins) **(Martini et Haddock, 2017).**

Dans la continuité de cette étude les données analysées basées sur des observations vidéo issues de plongées avec des véhicules opérés à distance (ROV) , les chercheurs au terme de leurs analyses, ils ont constaté que 30 à 41% des organismes benthiques observés étaient classés comme pouvant émettre de la lumière, avec une forte différence entre les écosystèmes benthiques et pélagiques et que la distribution des organismes bioluminescents était liée aux principales différences entre les habitats benthiques et pélagiques dans les profondeurs des océans. Or, le milieu profond en dessous de 500 mètres demeure insuffisamment exploré **(Martini et Haddock, 2017).**

### **1. Phénomènes de bioluminescence marine**

La bioluminescence ou bio-chimioluminescence présentée par certains organismes est l'émission de photons lorsqu'une molécule organique excitée, suite à une réaction d'oxydation catalysée par une enzyme (luciférase). La compréhension de la régulation des gènes de la luciférase a révélé la communication intercellulaire entre les bactéries, ce qui a fourni des informations sur les associations bactériennes et leur pathogénèse dans l'environnement **(Anne-Marie. B, 2005).**

### **2. Historique de bioluminescence et les êtres lumineux**

Aristote fut le premier à signaler la lumière froide des poissons morts et des moisissures. Pline l'ancien a décrit plusieurs créatures lumineuses dans son Histoire Naturelle : méduses, lucioles, méduses, champignons. Boyle (1667) réalisa les premières expériences sur la bioluminescence et montra que l'air est nécessaire à la bioluminescence. Scheele et Priestley (1767) ont montré que l'oxygène est indispensable, tandis que Spallanzani (1790) a montré que l'eau est également indispensable. Enfin Dubois découvre en 1887 que la bioluminescence fait intervenir trois composés : Un composé organique oxydable qu'il a appelé luciférine, une enzyme spéciale qu'il a appelée luciférase et oxygène **(Anne-Marie, 2005).**

### **3. Les fonctions et le besoin de la bioluminescence**

De nombreuses fonctions différentes biologiques et écologiques ont été proposées pour la bioluminescence, mais une explication plus concise qu'il est utilisé comme dispositif défensif anti-prédateur. Ici, nous classons les différentes réponses de défense des organismes en quatre types **(Martini et Haddock, 2017).**

**a) Eclairage** : peu d'exemples de cette utilisation Bioluminescence. L'un d'eux est que certaines de nombreuses espèces mésopélagiques (jusqu'à 1000 m de profondeur) s'illuminent en raison de la lueur bleue correspondante à la longueur d'onde optimale pour la propagation dans l'eau de mer. Ils ont des pigments visuels sensibles à cette couleur (**Anne-Marie, 2005**).

**b) Attirer des proies** est une fonction plus courante, exemples : les baudroies ont des tentacules avec Bactéries incandescentes. Ce tentacule imite le signal d'une autre espèce et attire dirigeant ainsi la proie vers la bouche du poisson (**Anne-Marie, 2005**).

### **c) Protection contre les prédateurs**

- émettre des flashes inattendus pour effrayer les prédateurs (exemple : méduses).

- Utiliser la bioluminescence pour tromper les prédateurs. Par exemple, Les poissons-lanternes qui vivent en banc s'ils sont attaqués par des prédateurs, les mâles émettent de la lumière et nagent dans toutes les directions depuis le banc. Les prédateurs essaient de chasser des femelles qui restent dans le noir utilisent cette stratégie.

- Utilisez la bioluminescence pour éviter les prédateurs. C'est le cas des pélagiques (poissons et calmars) (**Anne-Marie, 2005**).

**d) Communication** notamment entre partenaires lors de la présentation sexuel comme la parade nuptiale. Le sexe est particulièrement spectaculaire. Tout d'abord, la femelle a fait surface, nageant rapidement tout en décrivant le cercle. Ils émettent leurs œufs et une sécrétion rougeoyante qui forme un halo autour d'eux. Le mâle remonte alors à la surface pour émettre un flash. Ils nagent avec la femelle et libèrent du sperme avec des sécrétions rougeoyantes (**Anne-Marie, 2005**).

## **4. Applications de la bioluminescence**

Les organismes bioluminescents sont divers et largement distribués dans les écosystèmes d'eau douce, marins et terrestres. Le premier exemple de "communication entre cellules" a été expliqué par *Vibrio. fischeri*, une bactérie marine qui contrôle les gènes de la bioluminescence. (**Martini et Haddock ,2017**).

La compréhension de la régulation des gènes de la luciférase a révélé la communication intercellulaire bactérienne ce qui a permis de mieux comprendre la pathogénèse microbienne et les associations de microbes dans l'environnement, les *Vibrio. fischeri* sont les organismes émetteurs de lumière les plus abondants et les plus largement distribués qui forment des symbioses spécifiques aux espèces avec les animaux marins, comme les calmars et les poissons (**Martini et Haddock ,2017**).

Les *Vibrio. fischeri* sont des systèmes modèles pour discerner les facteurs de colonisation bactérienne et les déterminants de la spécificité de l'hôte. Il est intéressant de noter que l'association est extrêmement spécifique lorsque certaines souches de *Vibrio. fischeri* sont présentes (**Martini et Haddock ,2017**).

Certaines souches de *V. fischeri* colonisent les calmars et utilisent la bioluminescence libérée par *Vibrio. fischeri* pour se déguiser en interrompant l'ombre qui l'entoure par une lumière impeccable. Le calmar *Loligo vulgaris* recrute des populations de *Vibrio. fischeri* pour initier et établir la symbiose dans l'organe de lumière et induire des changements dans l'organe de lumière par des signaux dérivés des bactéries appelés motifs moléculaires associés aux microbes pour utiliser la bioluminescence (Anne-Marie, 2005).

### III. La Relation symbiotique entre le Calamar et *Vibrio fischeri*

#### 1. Présentations de la bactérie marine *Vibrio fischeri*



**Figure 15.a)** vu microscopique de la bactérie , *Vibrio. fischeri* x76000. **b)** photo réelle d'une colonie de bioluminescence bactérie , *V. fischeri*. (Michael, Madigan et al., 2010).

a

b

*Vibrio fischeri* est une bactérie hétérotrophe à Gram-négative, bioluminescente, aquatique, réside principalement dans l'eau de mer, qui contient des sels dissous à une concentration de 3,5 %.

Dans cet environnement les colonies formées par *Vibrio. fischeri* peuvent être trouvées vivants librement dans l'eau de mer, et également en symbiose avec certains organismes marins : poissons et calmars a des organes lumineux, ou de manière saprophyte, par exemple sur la peau d'un poisson mort et même de manière parasitaire dans le corps d'un crustacé (Madigan, Martinko, 2005).

*V. fischeri* est capable de se développer dans une gamme de conditions en utilisant plusieurs substrats, contrairement à de nombreux symbiotes obligatoires qui développent des génomes réduits adaptés à un environnement hôte relativement simple et constant, et selon notre connaissance, *V. fischeri* n'a jamais été documenté comme agent pathogène. Son incapacité à se développer à 37 ° C l'empêche certainement de provoquer des infections humaines, et il n'a pas été observé qu'il provoque des maladies chez les organismes

marins, même à des températures permissives car cette espèce semble entrer dans des associations bénignes ou bénéfiques avec des hôtes, elle utilise son système QS pour activer les gènes de la luminescence dans un environnement d'organes lumineux à haute densité (Michael, Madigan *et al.*, 2010).

## 2. Quorum Sensing :

### a. Histoire :

Le phénomène du Quorum Sensing a été découvert à la fin des années 1960 par **J. Woodland Hastings** alors qu'il étudiait la bioluminescence de la bactérie marine *Vibrio fischeri* qui vit en symbiose mutualiste dans le photophore du calmar hawaïen, il a été observé que les cultures ne produisaient de la lumière qu'en présence d'un grand nombre de bactéries. La luminescence a été initiée par l'accumulation d'une molécule activatrice ou d'un "auto inducteur". Au départ, on pensait que le Quorum Sensing était un canal de communication entre des bactéries de la même espèce (Rani, Namita, 2021).

Cependant, les travaux de **Bonnie Bassler**, professeur de microbiologie à Princeton, ont permis d'établir que le quorum est un mécanisme de communication entre des bactéries de la même espèce. Ils ont établi que le quorum est un phénomène universel utilisé par les bactéries pour communiquer avec d'autres espèces bactériennes dans leur voisinage. Le groupe de Bassler a signalé que *Vibrio. Fischeri* pouvait se développer lorsqu'il était en association symbiotique avec des poissons et des calmars, mais pas à l'état libre. De plus, l'extrait cellulaire d'autres bactéries pouvait également induire une bioluminescence chez cette espèce, ce qui indique que les bactéries peuvent détecter des signaux non seulement à leur propre espèce, mais aussi à d'autres bactéries. Ainsi, les bactéries ont un langage chimique universel, un "espéranto bactérien" qu'elles utilisent pour parler entre les espèces. Ce dialogue bactérien a des implications dans les populations d'espèces mélangées telles que les biofilms (Rani, Namita, 2021).

### b. Définition du Quorum Sensing

Accumulent au fur et à mesure que la densité cellulaire augmente. Ces molécules sont produites de manière constitutive par chaque cellule Le mot "quorum" signifie "nombre suffisant" et, en ce qui concerne la culture microbienne, il fait référence à la densité cellulaire. Ainsi, le Quorum Sensing est un phénomène dépendant de la densité cellulaire qui permet aux bactéries de communiquer de cellule à cellule et de reconnaître et réagir à la densité de la population cellulaire qui les entoure. Le Q.s implique une concentration seuil particulière de molécules de signaux chimiques extracellulaires (appelées phéromones et auto-inducteurs) qui s'e en faible concentration et sont libérées dans le milieu environnant, de manière active ou passive. Au fur et à mesure que la population augmente, leur concentration augmente automatiquement dans le milieu extracellulaire environnant. Ces molécules de signalisation extracellulaires (appelées phéromones ou auto inducteurs) sont identifiées par les cellules voisines via des récepteurs spécifiques. Lorsque l'inducteur se lie au récepteur, il active la transcription de certains gènes, y compris ceux de sa propre synthèse, et c'est pourquoi on le qualifie

d'auto inducteur. Quand la concentration de l'inducteur passe un seuil, provoquant la synthèse de plus d'inducteur synthétisée. Cela forme une boucle de rétroaction positive, et le récepteur devient complètement activé, l'activation du récepteur induit la régulation positive d'autres gènes spécifiques, ce qui fait que toutes les cellules commencent la transcription à peu près au même moment. Ce processus permet aux populations de bactéries de réguler de manière synchrone l'expression des gènes et donc de modifier leur comportement. La faible expression basale de la molécule inductrice ne suffit pas à elle seule à activer l'expression des gènes, et la diffusion rapide des molécules hors de la cellule garantit qu'elles ne s'accumuleront pas sans l'apport d'autres cellules (**Rani, Namita, 2021**).

Le quorum Sensing permet aux bactéries de coordonner leur comportement en fonction de la densité de leur population locale et en fonction de la disponibilité des nutriments, de la défense contre les autres micro-organismes. Il est utilisé par les bactéries pathogènes pour coordonner leur virulence afin d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte et d'établir une infection réussie. La détection du quorum est présente à la fois chez les bactéries gram-négatives et gram-positives, et est utilisé par les bactéries pour coordonner diverses activités biologiques, notamment bioluminescence, sporulation, compétence (**Rani, Namita, 2021**).

### c. Quorum Sensing chez *Vibrio- fischeri*

La bioluminescence est régulée par autodétections ou détection de quorum, et il a été rapporté que pour la première fois chez *Vibrio. Fischeri*, la "communication cellule à cellule" relie l'expression des gènes à densité cellulaire bactérienne. La détection du quorum facilite de nombreux rôles essentiels à la survie continuez à partir de *V. Fischeri*. Par exemple, la symbiose entre *V. Fischeri* et *Loligo vulgaris* nécessite une activité des cellules synchronisées avec la luciférase émettent suffisamment de lumière pour avertir l'hôte Son exposition (**Ruby E, 1996**).

L'organe luminescent du calmar est exclusivement colonisé par *V. Fischeri*, il est très faible dans l'eau de mer environnante. *V. Fischeri* utilise son système QS pour activer les gènes luminescents dans un environnement d'organes lumineux à haute densité. Ce système modèle fournit non seulement un aperçu du rôle du QS dans les interactions animaux-hôtes-bactéries (**Stevens, Greenberg, 1997**).

### 3. Dynamique de colonisation et développement

Chez les *Loligo vulgaris* adultes, les cellules de *V. Fischeri* sont situées au niveau d'organes complexes bilobés supérieurs à 10<sup>9</sup> bactéries ou environ 10<sup>11</sup> cellules/ml de fluide organique léger (**Boettcher, Ruby1990 ; Nyholm et McFall-Ngai 1998**). C'est à ces densités cellulaires élevées que les bactéries peuvent entrer de symbiose (bioluminescence).

Les organes adultes contiennent plusieurs tissus y compris l'orientation et la réglementation lumineuse, il convient de noter que l'organe émetteur de lumière occupe une grande partie de la cavité corporelle du calmar

(manteau), une caractéristique indiquant l'importance relative de cet organe en relation symbiotique dans le cycle de vie des animaux.

Les calamars juvéniles éclos en absence de symbiotes (non symbiotes) ont d'abord été exposés à des cellules de *V. Fischeri* alors que les animaux évacuaient l'eau de mer dans leur cavité du manteau, les organes lumineux juvéniles ont deux ensembles d'appendices ciliés superficiels qui se projettent dans la cavité du manteau (McFall-Ngai, Ruby, 1991). Les cils sur ces appendices, ainsi que les cils qui décorent les crêtes de chaque côté de l'organe, aspirent l'eau de mer environnante contenant des bactéries dans les pores qui servent d'entrées. En plus des cils la surface de l'organe luminal est recouverte de mucus sécrété par l'épithélium de l'appendice (Nyholm *et al.*, 2000 ; 2002).

On pense que le mouvement directionnel des cils et du mucus sécrété en surface facilite la fixation de *V. Fischeri* chez les calmars transportés dans de l'eau de mer ventilée. Ainsi, dans les tout premiers stades de la colonisation, la surface de *Vibrio fischeri* est recouverte de mucus et le milieu est très différent de celui de l'eau de mer. Une petite fraction des cellules de *V. Fischeri* se rassemblent à la surface de l'organe léger symbiotique, et finalement une seule cellule se faufile à travers les pores dans l'organe. Au total, six trous sont présents, trois de chaque côté de l'organe. Leur diamètre varie de 5 à 15 µm (Montgomery, McFall-Ngai, 1993) (Ruby, Asato, 1993), Ainsi, les cellules de *V. Fischeri* qui mesurent environ 1 à 2 µm de long, et sont nettement plus petites que les pores dans lesquels elles pénètrent. La perméabilité bactérienne semble être importante pour l'entrée, car les bactéries immobiles semblent s'agréger mais ne migrent pas dans les pores (Nyholm *et al.*, 2000). Six trous mènent de la surface à six conduits ou extensions tubulaires (Montgomery, McFall-Ngai, 1993). Passer le cathéter semble être un défi, les canaux contiennent du mucus, des cils qui semblent se tortiller vers l'extérieur vers les pores et des molécules antimicrobiennes, Pour coloniser, *V. Fischeri* doit être capable de surmonter ces défis et d'autres.

#### 4. Dynamique de Symbiose calamar, *Vibrio- fischeri*

L'un des aspects les plus intéressants de la symbiose de *V. Fischeri* avec le calmar est sa nature dynamique. Les calmars sont des animaux nocturnes leurs comportements et calqués sur le cycle jour/nuit. Par exemple, les animaux cherchent de la nourriture la nuit, mais s'enfouissent dans le sable pendant la journée (Moynihan 1983). Les jeunes éclosent des œufs qui sont colonisés la nuit. Cet événement initie le cycle de colonisation, d'expulsion et de repousse à l'aube, un calmar colonisé expulse 90 % de ses symbiotes bactériens par contraction musculaire (Boettcher *et al.*, 1996 ; Graf et Ruby, 1998 ; Lee et Ruby, 1994 ; Nyholm et McFall-Ngai, 1998 ; Ruby et Asato, 1993).

Une conséquence de ce phénomène est que les bactéries et leurs hôtes vivent quotidiennement dans un environnement changeant. Dans cette section, nous décrivons certains des détails moléculaires connus qui

correspondent au rythme de la biologie des calmars, y compris les événements de colonisation précoce et les événements quotidiens ultérieurs qui affectent les interactions entre les partenaires.

La production de mucus favorise la capacité de *V. Fischeri* à s'agréger à la surface de l'organe léger et par la suite à pénétrer et à coloniser, cependant, une fois que *V. Fischeri* a colonisé, l'excrétion de mucus est régulée à la baisse : la quantité de mucus sécrétée par les animaux aposymbiotiques de 72 h était significativement supérieure à celle des animaux colonisés de 48 h (**Nyholm et al., 2002**). De plus, *V. Fischeri* pouvait s'agréger sur les organes légers des animaux aposymbiotiques lors d'une exposition à tout moment au cours des 4 premiers jours, mais ne pouvait pas s'agréger sur les organes légers des animaux symbiotiques de 48 h, qui libèrent relativement peu de mucus. Vraisemblablement, une fois la colonisation réalisée, il n'y a plus besoin de mucus pour favoriser l'agrégation bactérienne, et donc il est régulé négativement, cette diminution de la production de mucus limite également probablement la colonisation par des espèces indésirables. Ce contrôle strict de l'initiation de la symbiose soulève les questions, combien de cellules sont nécessaires pour initier la colonisation et combien de cellules différentes de *V. Fischeri* peuvent coloniser avec succès l'organe lumineux d'un seul calmar ?

Ces questions ont été expérimentalement abordées dans une série d'études. Les premières études ont indiqué que le calmar pouvait contenir plus d'une souche, par exemple des bactéries avec différents profils plasmidiques pourraient être isolées de l'organe léger d'un seul animal adulte capturé sur le terrain (**Boettcher et Ruby, 1994**). Lorsqu'un mélange de deux souches a été utilisé pour inoculer des calmars juvéniles, certains animaux colonisés contenaient les deux souches, indiquant que plusieurs souches pouvaient coloniser. De plus, une souche marquée pourrait être introduite dans un animal colonisé, bien qu'à une fréquence très faible (**Lee et Ruby, 1994**) ; il est probable que la faible efficacité de la surinfection résultait d'une diminution de l'excrétion de mucus et de la perte des appendices superficiels ciliés.

Chez le calamar, la variation de la bioluminescence bactérienne au cours du cycle jour/nuit. La luminescence augmente et c'est la plus élevée dans les heures qui précèdent l'obscurité ; la production de lumière est jusqu'à 100 fois plus faible à d'autres moments (**Boettcher et al., 1996**). Ce rythme d'augmentation et de diminution de l'émission de lumière est perturbé si les animaux sont maintenus dans une lumière constante ou dans l'obscurité constante, ce qui indique qu'il s'agit d'un rythme quotidien plutôt que d'un rythme circadien (**Boettcher et al., 1996**). De plus, la quantité de bioluminescence spécifique, ou la quantité de lumière produite par cellule, varie au cours du cycle jour/nuit. Lorsque les niveaux de luminescence symbiotique sont élevés avant le début de l'obscurité, la quantité de lumière symbiotique par cellule correspond à celle produite par les bactéries nouvellement libérées (**Boettcher et al., 1996**), les données indiquent que le calmar contrôle (inhibe) la production ou l'émission de lumière. L'expulsion quotidienne des bactéries à l'aube contribue à la modification de l'émission lumineuse au cours du cycle journalier : on peut observer un pic de luminescence

au passage de l'obscurité à la lumière qui n'est pas observé pour les animaux maintenus dans des conditions constantes de lumière ou d'obscurité.

Un autre mécanisme par lequel le calmar contrôle l'émission de lumière consiste à la bloquer physiquement. Il est clair que les animaux adultes peuvent diriger, contrôler et dissimuler la lumière produite par leur partenaire bactérien à l'aide d'un sac d'encre contrôlé par les muscles, ainsi que de tissus cristallins et réflecteurs. Ces tissus dirigent la lumière vers le bas pour correspondre au clair de lune descendant et moduler l'émission de lumière dans une variété de conditions environnementales naturelles (par exemple, la pleine lune et la nouvelle lune), permettant ainsi au calmar d'utiliser le contre-éclairage comme mécanisme de défense (Jones, Nishiguchi, 2004).

En conclusion, la symbiose lumière-organe est dynamique. Les bactéries et leurs hôtes interagissent les uns avec les autres pour influencer l'expression des gènes et induire des activités de développement qui, entre autres, favorisent l'affinement de la sélection des partenaires et la réduction de la concurrence d'autres, dont *V. Fischeri*. Pour l'hôte, certains changements sont irréversibles une fois initiés, tandis que d'autres nécessitent la présence continue de bactéries (Jones et Nishiguchi, 2004).

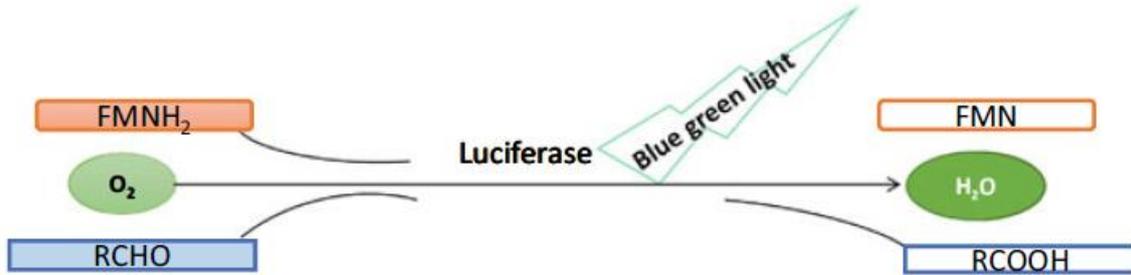
## 5. Mécanisme d'émissions de la bioluminescence

Bien que les isolats de *Vibrio* soient des aérobies facultatifs, ils ne sont bioluminescents qu'en présence d'O<sub>2</sub>. La luminescence chez les bactéries nécessite les gènes luxCDABE et est catalysée par l'enzyme luciférase, qui utilise l'O<sub>2</sub>, un aldéhyde aliphatique à longue chaîne tel que le tétradécanal, et le mononucléotide de flavine réduit (FMNH<sub>2</sub>) comme substrats :  $FMNH_2 + O_2 + RCHO \rightarrow FMN + RCOOH + H_2O + \text{lumière}$ . Le système générateur de lumière constitue une voie métabolique permettant de transférer directement les électrons de FMNH<sub>2</sub> vers O<sub>2</sub>, sans utiliser d'autres transporteurs d'électrons tels que les quinones et les cytochromes. (Michael T, Madigan *et al.*, 2010).

La luminescence dans de nombreuses bactéries luminescentes ne se produit qu'à des densités de population élevées. L'enzyme luciférase et d'autres protéines des systèmes de luminescence bactériens présentent une induction de réponse de densité de population, appelée auto-induction. (Michael, Madigan *et al.*, 2010).

La transcription du gène luxCDABE est contrôlée par la protéine régulatrice LuxR et la molécule inductible acylhomosérine lactone (AHL). Au cours de la croissance, les cellules produisent de l'AHL, qui se déplace rapidement d'avant en arrière à travers la membrane cytoplasmique, se diffusant dans et hors de la cellule. L'AHL s'accumule dans des conditions qui permettent d'obtenir des densités cellulaires locales élevées, comme dans des tubes à essai, des colonies sur des plaques ou dans les organes lumineux de poissons ou de calmars. (Michael, Madigan *et al.*, 2010).

Ce n'est que lorsqu'il atteint une certaine concentration dans la cellule qu'il se lie à LuxR, forme un complexe, active la transcription de lux CDABE et fait briller la cellule. Ce mécanisme de régulation génétique est également connu sous le nom de Quorum Sensing car la nature de ce phénomène dépend de la densité de la population. (Michael, Madigan *et al.*, 2010).



**Figure 16.** La réaction biochimique catalysée par l'enzyme luciférase utilise le mononucléotide de flavine (FMNH<sub>2</sub>) et un aldéhyde gras à longue chaîne pour générer la bioluminescence (Rani, Namita, 2021)

## Deuxième partie : Matériels et méthodes

Suite aux situations difficiles de cette année 2021 et de la pandémie du Covid-19, notre sujet de master n'a pas pu être réalisé sur terrain, nous avons orienté notre travail sur la réalisation d'une synthèse des trois articles portant sur le thème de départ et sur la Bioluminescence des organismes marins cas du calamar (*Loligo vulgaris*) et *Vibrio. Fischeri*.

### I. Echantillonnage

Après lecture des trois articles, nous constatons que dans l'étude de **Parmar et al., 2020** les échantillons ont été prélevés d'eau de mer à deux endroits différents des régions côtières du Gujarat, le Littoral de Veraval et littoral de Somnath. A partir de deux types de créatures marines, le maquereau indien et le calmar ont été isolé des bactéries bioluminescentes, ces échantillons ont été conservés à  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  jusqu'à leur traitement ultérieur.

La recherche de **Jabalamei et al., 2015** et **Kannahi et al., 2014** a été conçu pour isoler les bactéries luminescentes d'échantillons d'eau de mer. L'échantillons de **Jabalamei et al., 2015** a été prélevé par plongée sous-marine à différentes profondeurs, un à 01m et à 15m du fond au port de Chah Bahar en submergeant des bouteilles autoclavées sous l'eau en ouvrant leurs bouchons puis scellées pour conserver la population microbienne exacte, alors que **Kannahi et al., 2014**, l'échantillon d'eau de mer a été prélevé sur différents sites du district de Nagapattinam, Tamil Nadu, Inde du Sud et stocké à  $4^\circ\text{C}$ .

### II. Mise en culture

Les échantillons d'eau de mer de **Parmar et al., 2020** prises de cinq organes d'organisme marins (tableau1) à l'aide de cotons-tiges stériles et de **Jabalamei et al., 2015**, ont été dilués en série puis inoculés par la technique de la plaque étalée. Les milieux de culture utilisé dans ces deux études sont un milieu gélose à l'eau de mer (SWA), milieu gélose nutritive (NA) et gélose luminescente (LA) pour **Parmar et al., 2020**, et un milieu gélose à l'eau de mer nutritive (SWC) pour **Jabalamei et al., 2015**. Toutes les boîtes inoculées des deux études ont été incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 18-24 h. Après la période d'incubation, les plaques ont été observées dans l'obscurité complète à température ambiante ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Les colonies bactériennes résultantes les plus brillantes ont été sélectionnées et réensemencées sur des plaques de gélose SWC afin d'obtenir des colonies purifiées.

**Kannahi et al., 2014** ont préparé un milieu de gélose au thiosulfate de citrate de sel biliaire et de saccharose, le milieu (LM) et le milieu (SWC), ensuite le tout a été versé sur les boîtes de Petri stériles. Après solidification, les échantillons d'eau de mer ont été étalés sur le support. Ensuite, les plaques ont été incubées à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures pour l'isolement des bactéries. Les colonies bactériennes ont été purifiées par des stries répétées, les colonies purifiées ont été conservées à  $4^\circ\text{C}$  pour d'autres expériences.

### III. Identification des souches

#### 1. Caractérisation phénotypique

##### Examen macroscopique

Cet examen permet l'observation visuelle de la culture des isolats pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies sur milieu solide et le trouble dans le milieu liquide (**Badis et al., 2005**).

##### a. Évaluation de la luminescence

Dans l'étude de **Parmar et al., 2020**, après la période d'incubation, la luminescence des échantillons a été observée dans une pièce sombre. Pour enregistrer les résultats, l'intensité de la luminescence a été notée en termes d'évaluation visuelle ('-' : Négatif, '+' : Médiocre, '++' : Bon)



**Figure 17.** Bioluminescence produite par *Vibrio fischeri* en culture (**Doberva et al., 2017**)

Alors que les cellules de **Jabalameili et al., 2015** ont été incubées dans le bouillon SWC avec un agitateur rotatif (120 rpm) à 25°C pendant une nuit et le rendement lumineux de chaque souche isolée a été déterminé

Avec un luminomètre (système de détection Berthold, Allemagne) a été rapporté en tant qu'unités lumineuses relatives (RLU/seconde) divisées par la densité optique à 600 nm (OD600) de la culture (Shao et Hor, 2001).

### b. Teste de biofilm



Figure 18. Luminomètre Berthold Lumat 9508 (Olivier, 2021).

Jabalamei *et al.*, 2015 a testé la formation de biofilm par la méthode modifiée de Vikram et al. (2010). Les colonies bactériennes ont été cultivées pendant une nuit à 25°C dans un bouillon SWC. La culture bactérienne a ensuite été diluée au 1 :100 dans un nouveau milieu SWC et 150µl de cette dilution ont été utilisés pour inoculer le milieu stérile à fond plat 96 puits de microfiltration en polystyrène. La culture a été placée dans des plaques à 96 puits en polystyrène et incubée à 25 °C pendant 24 h sans agitation. Ensuite, les puits ont été doucement lavés trois fois avec 200µl de PBS et chaque puit a été exposé à 100µl de méthanol à 99 % pendant 15 minutes pour la fixation. Les solutions ont ensuite été retirées et la plaque a été séchée à l'air. Dans l'étape suivante, 150µl de cristal violet 1 % ont été ajoutés à tous les puits pendant 20 min. Après avoir retiré le colorant, le colorant associé au biofilm a été dissous avec 150µl d'acide acétique à 33%, et la DO de chaque puits a été mesuré à 590 nm à l'aide d'un lecteur de plaque de microfiltration.

Les isolats ont été classés dans les quatre catégories suivantes en fonction de la densité optique (Stepanovic *et al.*, 2007), pour les non producteurs de biofilm (test  $OD < OD_c$ ), pour les producteurs de biofilm faible ( $OD_c < OD < 2 \times OD_c$ ), biofilm modéré producteurs ( $2 \times OD_c < OD < 4 \times OD_c$ ), et de forts producteurs de biofilm ( $4 \times OD_c < OD$ ).

### Examen microscopique

Ce test est effectué sur des frottis auparavant colorés par une coloration différentielle (coloration de Gram), qui permet de sélectionner les bactéries Gram+ et Gram-, et d'apprécier la forme et le mode de regroupement

des cellules. La coloration est faite selon la méthode classique, L'observation des cellules bactériennes est réalisée au microscope optique (G x100) (**Guiraud et Galzy, 1980**).

### **a. Coloration de gramme**

Ce teste a été effectuer par **Parmar et al., 2020** et **Jabalamehli et al., 2015** comme technique de différenciation et sélectionner courante des bactéries issues d'échantillonnage.

## **2. Caractérisation physiologique**

### **a. Teste de PH**

Après lecture des trois articles, nous constatons que dans l'étude de **Parmar et al., 2020**, et **Kannahi et al., 2014**, ce test été fait par ensemencement des bouillons, dont le pH est ajusté, la croissance des bactéries est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes (**Guessas et Kihal, 2006 ; Rouisset et Bensoltane, 2006**).

### **b. La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl**

Généralement, les bactéries bioluminescentes ne se développent pas en l'absence de NaCl et ne se développent probablement pas en cas de faible stress osmotique ce qui permet à ce test de révéler l'effet des différentes concentrations de Na Cl sur la luminescence des bactéries luminescentes dans l'étude de **Parmar et al., 2020** et **Kannahi et al., 2014**.

## **3. Caractérisation biochimique**

### **a. Profil fermentaire (fermentation des sucres)**

Il s'agit d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers substrats carbonés en particulier les sucres. La fermentation des solutions de sucres stériles, le glucose, le galactose, le saccharose et le maltose, l'arabinose en utilisant de l'eau peptonée avec des disques de sucre respectifs permet d'apprécier l'aptitude des souches à métaboliser divers substrats carbonés en particulier les sucres (**Leveau et al., 1991**), cette méthode d'identifications été utilisée dans les trois études.

### **b. Test de mobilité**

La mobilité des bactéries repose sur l'ensemencement de la souche par piqure centrale d'un milieu semi-solide (La gélose semi solide). L'incubation est réalisée durant 24h à 30°C. le mannitol permet de vérifier la mobilité

des souches (Guiraud, 2003), chaque un des chercheurs Jabalameli *et al.*, 2015 et Kannahi *et al.*, 2014 à utiliser ce test.

### c. Teste d'oxydase

Ce teste a été réalisé dans les trois études, il détecte un type particulier de chaîne respiratoire qui comporte enfin de chaîne un Cytochrome C et l'oxydase associée (Singleton, 1994).

Placer sur une lame un disque oxydase commercialisé, imbiber avec une goutte d'eau physiologique. Prélever une colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteur, l'étaler sur le disque. Dans le cas de bactéries oxydase-positives, la coloration violet foncé apparaît immédiatement (Marchal *et al.*, 1991).

### d. Test de la catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en oxygène qui se dégage. Sur une lame propre, déposer une goutte d'eau oxygénée (10 volumes) puis ajouter une colonie bactérienne, une catalase positive est indiquée par le dégagement de bulles de gaz (Delarras, 2014) celle-là a été recherchée par Parmar *et al.*, 2020, Jabalameli *et al.*, 2015 et Kannahi *et al.*, 2014.

### e. Le MRVP (rouge de méthyle, Voges-Proskauer)

C'est un test basé sur des produits de dégradation du glucose, effectué pour étudier le devenir du glucose à l'aide d'un bouillon de phosphate de glucose réalisé par Parmar *et al.*, 2020, Jabalameli *et al.*, 2015 et Kannahi *et al.*, 2014.

### f. Test de l'indole et d'urée

Les 3 études de Parmar *et al.*, 2020, Jabalameli *et al.*, 2015 et Kannahi *et al.*, 2014 l'on agréer.

### g. TCBS (Thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose)

La capacité de croissance sur milieu gélosé a également été testé pour répondre aux besoins nutritionnels de *Vibrio spp* sur l'isolat de Jabalameli *et al.*, 2015 et Kannahi *et al.*, 2014. Le milieu TCBS est un milieu Sea Water complexe Agar, un milieu sélectif qui permet la croissance des bactéries appartenant aux genres *Vibrio* sp, l'apparition de colonies de couleur jaune dans ce milieu indique que la souche bactérienne est *Vibrio* sp. Parmar *et al.*, 2020 à rajouter un autre test biochimique tel que la capacité d'hydrolyse de la caséine et de la gélatine a été évaluée à l'aide d'un milieu de gélose au lait et d'un milieu de gélatine nutritive et la capacité de production d'enzyme désaminase été testée en utilisant un milieu gélosé à la phénylalanine tandis que le teste de TSI (gélose triple sucre-fer) et la réduction des nitrates ont été appliquer dans l'étude de Jabalameli *et al.*, 2015.

#### 4. Caractérisation génotypique

Ces deux méthodes en dessous ont été utilisées dans la caractérisation des bactéries dans l'étude de **Jabalamehli et al., 2015**.

##### a. Un séquençage du gène de l'ARNr 16S

Réalisée pour confirmer l'identification des souches lumineuses.

##### b. Une PCR

Les ADN génomiques ont été extraites à l'aide de Méthode d'extraction Phénol-Chloroforme comme décrit par *Sambrook et al., (1989)*, ont utilisé cette méthode afin d'amplifier l'ADNr 16S bactérien. La viabilité et la présence d'ADN génomique extrait ont été confirmées par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%. Le mélange réactionnel dans chaque réaction de 25 µl était le suivant : 200µM de dNTP, 1X Tampon PCR, 1,5 Mm MgCl<sub>2</sub>, 1U Taq polymérase (Fermentas, Allemagne) et 1,5 µM de chaque amorce sens et antisens, l'ajout d'eau distillée stérilisée a porté le volume total à 25 µl. Les amorces universelles utilisées avaient la séquence nucléotidique ci-dessous et amplifient une séquence d'environ 1400 bps.

Amorce sens

AGAGTTTGATCATGGC-3'

Amorce antisens

5'-TACTTGTTACCGACTT-3'

## Troisième partie : Résultats et discussion

### I. Résultats

Les résultats des identifications phénotypiques, biochimiques, physiologiques et génotypiques des isolats bactériens obtenus dans les trois études étaient comme suit.

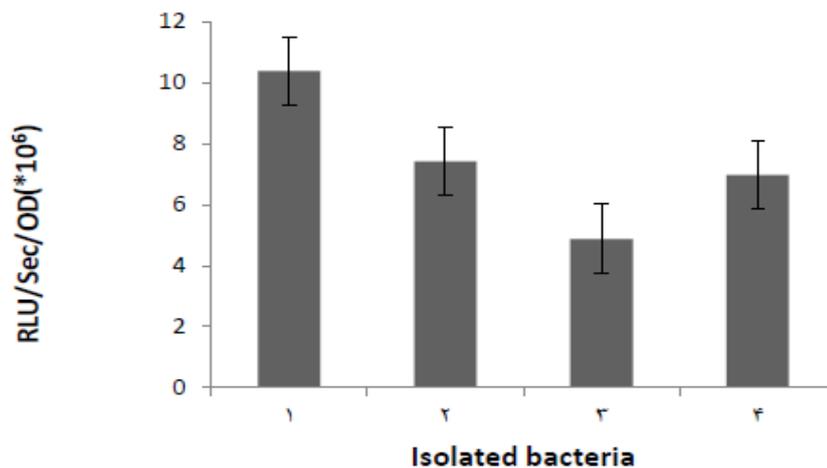
#### 1. Caractérisation phénotypique

##### Examens macroscopiques

##### a. Évaluation de la luminescence

Dans l'article de **Parmar et al., 2020** l'observation de luminescence des échantillons a été observée dans une pièce sombre. Les résultats étaient enregistrés par l'intensité de la luminescence et notés en termes d'évaluation visuelle ('-' : Négatif, '+' : Médiocre, '++' : Bon).

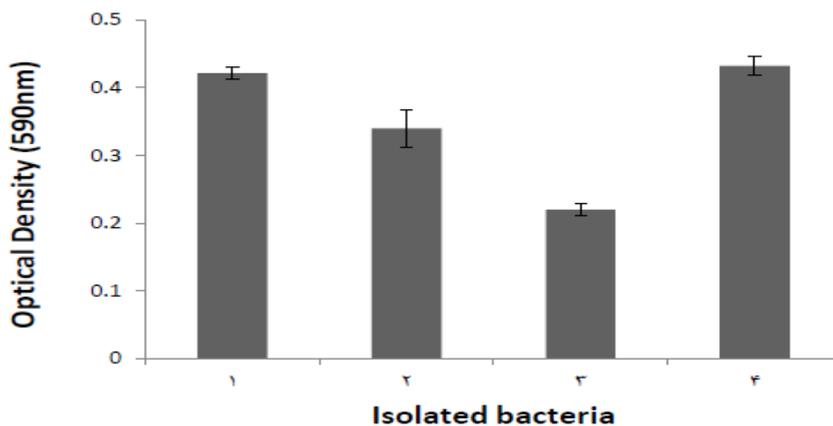
Alors que le rendement lumineux des 4 souches isolées de **Jabalamehli et al., 2015** étaient déterminés avec un luminomètre (système de détection Berthold, Allemagne). Les résultats obtenus de la densité d'unités lumineuses relatives (RLU/seconde) sur la densité optique à OD ont révélés que les bactéries isolées appartiennent au même genre *Vibrio* et parmi ces 4 bactéries S2 et S4 présentait les mêmes phénotypes de bioluminescence alors que S3 ne pouvait pas émettre autant de lumière que les autres.



**Figure 19.** Mesure de la puissance lumineuse de chaque isolat bactérien en tant qu'unités lumineuses relatives, es souche de **Jabalamehli et al., 2015**.

## b. Teste de biofilm

Dans l'étude de **Jabalamehli et al., 2015**, vingt colonies brillantes ont été isolées de la couche d'eau souterraine (souche 4) et inférieure (souche 1, 2 et 3), les quatre colonies ont été sélectionnées pour expérimenter la capacité de formation de biofilm. La quantité de production de biofilm basée sur la mesure de la DO à 590 nm à illustrée une DO similaire pour *Vibrio* sp. S1 S 4, mais S2 et S3 ont marqué une capacité différente de production de biofilm. De plus, l'analyse statistique a révélé que S3 était un faible producteur de biofilm tandis que les espèces restantes étaient considérées comme des producteurs modérés de biofilm.



**Figure 20.** Quantification du biofilm produit par des bactéries isolées. Les densités optiques de souche de **Jabalamehli et al., 2015**.

## Examen microscopique

### a. Coloration de gramme

La première étape de la caractérisation bactérienne de **Parmar et al., 2020** et **Jabalamehli et al., 2015** a par ce test de coloration de Gram a marqué que tous les isolats étaient Gram des bâtonnets négatifs.

## 2. Caractérisation physiologique

### a. Teste de PH

Le pH 7 testé de la part de **Parmar et al., 2020** et **Kannahi et al., 2014** s'est avéré optimal (bonne luminescence), pH 9 optimal pour la luminescence des bactéries de **Kannahi et al., 2014** tandis que pour **Parmar et al., 2020** une faible luminescence pour leurs isolats ou totalement incapables de se développer à pH 3 et 11. Cela a permis d'identifier ces souches autant que *Vibrio fischeri*.



**Figure 21.** *Effect de PH ajusté sur la luminance des bactérie luminescents (Ranjith Kumar, 2010).*

### **b. La Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl**

Sachant que les bactéries bioluminescentes nécessitent une concentration en sel significativement plus élevée et ne se développent probablement pas en cas d'absence de NaCl et de faible stress osmotique, les isolats PBF1 de **Parmar et al., 2020** et les isolat LB1 à LB10 de **Kannahi et al., 2014** ne se sont pas développés en l'absence de NaCl, à une concentration 3% jusqu'à 6% la luminescence été observée comme étant maximale, et de 6% à 9% aucun changement de luminescence n'a été détecté. Une telle observation suggère que le NaCl joue un rôle important dans la stimulation de la croissance, sans augmentation à un effet négatif sur la luminescence.



**Figure 22.** *Effect de différentes concentrations de NaCl sur la luminance des bactérie luminescent (Ranjith Kumar, 2010).*

### **3. Caractérisation biochimique**

Les colonies isolées ont été identifiées par des tests biochimiques selon le tableau suivant :

(+) Positive ; (-) Négative ; (+/-) positive pour quelque souches et négative pour des autres

(**Alcaline / Acide**) présente une capacité de fermentation du glucose sans aucune production de gaz.

**Tableau 1.** résultat des teste biochimique appliquer sur les isolats des 3 études.

<b>Étude Test</b>	<b>Parmar et al.2018</b>	<b>Jabalamehli et al., 2015</b>	<b>Kannahi et al., 2014</b>
<b>Glucose</b>	+	+	+ /-
<b>Galactose</b>	+	+	
<b>Maltose</b>	+	+	
<b>Saccharose</b>	-	-	+ /-
<b>Manitol</b>		+	
<b>Arabinos</b>		-	
<b>MR</b>	-	+	+/-
<b>VP</b>	-	-	
<b>L'uréase</b>	-	+	
<b>Oxydase</b>	+	+	+
<b>Catalase</b>	+	+	+
<b>TCBS Agar</b>		+	
<b>TSI</b>		<b>Alcalin/Acide</b>	
<b>Hydrolyse Caséine</b>	-		
<b>Hydrolyse de gélatine</b>	-		
<b>Simmon Citrate</b>			+
<b>Nitrate</b>		+	+/-
<b>Gelatinase</b>		+ /-	
<b>Utilisation des lipides</b>	-		
<b>Utilisation du citrate</b>	-		
<b>Désamination de la phénylalanine</b>	-		
<b>Utilisation de l'amidon</b>	-		
<b>Production d'indole</b>	-		
<b>Indole</b>		-	+/-
<b>Motility</b>			+

Cependant ces tests biochimiques ne pouvaient pas déterminer avec précision les caractéristiques des isolats, pour une identification plus sûre, des tests supplémentaires ont été nécessaires.

## 4. Caractérisation géotypique

### a. Un séquençage du gène de l'ARNr 16S et PCR

Les tests biochimiques ne pouvaient pas déterminer avec précision les caractéristiques géotypiques des isolats lumineux de **Jabalamehli et al., 2015**, l'identification de ces isolats a été réalisée par analyse de séquençage du gène de l'ARNr 16S. La recherche BLAST des séquences du gène de l'ARNr 16S de bactéries isolées par rapport aux séquences de la base de données de nucléotides a révélé que toutes les espèces lumineuses appartiennent au genre *Vibrio*.

## II. Discussion

### • Discussions des travaux :

La recherche de **Parmar et al., 2020 (Isolement des bactéries bioluminescentes des organismes marins, Journal indien des sciences géomarines)** a été conçue pour isoler les bactéries bioluminescentes à partir d'échantillons d'eau recueillies sur la plage de Diu (Gujarat), le littoral de Nagapattinam (Tamil Nadu), la plage de Dapoli (Maharashtra). Les deux échantillons ont été pris à partir de deux types de créatures marines, le maquereau indien et le calmar.

Les cultures pures des isolats obtenues ont été identifiées selon leur caractère phénotypiques (Évaluation de la luminescence), biochimiques et physiologique (PH, NaCl), la méthodologie suivie pour l'isolement consiste à prélever des échantillons d'eau de mer dans des flacons de collecte stérile à deux endroits différents des régions côtières et de cinq organes de deux organismes marins, Les deux types d'échantillons pris à l'aide de coton-tige stériles, ont été dilués en série puis inoculés par la technique de la plaque étalée. Toutes les boîtes inoculées des deux études ont été incubées à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 18-24 h. Après la période d'incubation, les plaques ont été observées dans l'obscurité complète à température ambiante ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Les colonies bactériennes résultantes les plus brillantes ont été sélectionnées et réensemencées sur des plaques de gélose SWC afin d'obtenir des colonies purifiées.

Les isolats purs ont été caractérisés par émissions de lumière ; test de production de catalase et d'activité du cytochrome oxydase ; et l'évaluation du profil de fermentation des sucres (lactose, glucose, arabinose, fructose, saccharose), effet de PH et NaCl.

Au total, 2 genres de bactéries ont été identifiés PBS1 et PBF1 des études préliminaires suggèrent que les bactéries sélectionnées, PBF1 peuvent être identifiées comme *V. fischeri*.

La méthodologie suivie, selon le protocole de **Jabalamehli et al., 2015 (Isolement, identification et caractérisation de nouvelles bactéries lumineuses Port de Chah Bahar, habitat marin du sud de l'Iran)** consiste à identifier et caractériser des souches isolées à partir de deux échantillons prélevés par plongée à 1 m

et 15m de profondeur, à chah port de Bahar. L'échantillonnage été fait 50m l'un de l'autre, l'eau à été prélevée en submergeant des bouteilles autoclavées sous l'eau en ouvrant leurs bouchons puis scellées pour conserver la population microbienne exacte des couches d'eau sélectionnées tandis que l'identification a été réalisée par des méthodes moléculaires à savoir , l'ARNr 16S, le séquençage des gènes et une PCR , les ADN génomiques ont été extraits à l'aide de Méthode d'extraction Phénol-Chloroforme comme décrit par *Sambrook et al., (1989)*, ont utilisé cette méthode afin d'amplifier l'ADNr 16S bactérien. Puis un test de biofilm été tester par la méthode modifiée de *Vikram et al. (2010)*.

Au totale de vingt colonies brillantes ont été isolées 4 ont été sélectionnés, l'utilisation des tests biochimiques ne pouvait pas déterminer avec précision mais les caractéristiques génotypiques des isolats à révéler que toutes les espèces lumineuses appartiennent au genre *Vibrio-sp.*

**Kannahi et al., 2014 (Isolement et identification des bactéries bioluminescentes de l'eau de mer à Zone côtière de Nagappattinam, Article dans le Journal Pharm. Sci. Rev. Res.)** : Entrepris dans le but d'obtenir des bactéries ayant la capacité de croissance dans un milieu TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Saccharose), et la capacité de former des colonies de couleur jaune dans le milieu sélectif et le milieu Sea Water complexe Agar). La méthodologie consiste de prélever des échantillons d'eau de mer sur différents sites du district de Nagapattinam, Tamil Nadu, Inde du Sud ces échantillons ont été étalés sur boîtes de Petri stériles contiennent le milieu de gélose au thiosulfate de citrate de sel biliaire et de saccharose, le milieu LM, le milieu SWC solidifier, ensuite, les plaques ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

Les résultats obtenus 10 colonies luminescentes différentes ont été notées après l'incubation nommées LB1, LB2, LB3, LB4, LB5, LB6, LB7, LB8, LB9 et LB10, ont été identifiées par les caractéristiques culturelles, morphologiques et biochimiques comme *Vibrio fischeri*.

- **Discussion générale :**

Selon les différents travaux analysés, toutes les bactéries lumineuses isolées avaient les mêmes caractéristiques dans leurs tests biochimiques, à l'exception de teste MR, bien que ces caractéristiques ne puissent pas nous conduire définitivement et précisément à l'identification exacte des bactéries, dans chaque étude autre tests ont été rajouter afin de mieux les caractériser.

En se basent sur ces résultats, on a conclu que toutes les bactéries isolées dans les présentes études appartenaient au genre *Vibrio* exactement *Vibrio. Fischeri*. Une bactérie hétérotrophe à Gram-négatif était, productrice de biofilm émetteur d'intensité lumineuse, aquatique, résident l'eau de mer, qui contient des sels dissous à une concentration d'NaCl de 3 % et pH 7. Les colonies former par *V. fischeri* peut être trouvé vivant librement, de manière saprophyte, ou également en symbiose avec le calamar, le cas étudié. Le calamar recrute des populations de *V. Fischeri* pour initier et établir la symbiose dans l'organe de lumière et utilise la bioluminescence libérée par ces bactéries pour se camoufler.

Au vu des résultats obtenus, nous pouvons dire que l'identification par la caractérisation morphologique, physiologique, biochimique est très importante et c'est même l'étape clé de l'isolement et la mise en culte, mais, il serait intéressant de faire une identification plus poussée en utilisant des méthodes technologiques et moléculaires par PCR et ARNr 16S qui permettent de mieux révéler et identifier la flore bactérienne présente dans le différent biotope. En effet, Le travail de **Jabalamei *et al.*, 2015 a** prouvé que les espèces bactériennes peuvent être très bien discriminées par l'identification génotypique en utilisant l'identification des espèces par analyse de séquençage du gène de l'ARNr 16S, on cherche des séquences du gène d'ARNr 16S des bactéries isolées par rapport aux séquences de la base de données de nucléotides.

Ces techniques génotypiques permettent des gains de temps significatifs et n'ont besoin que d'une petite quantité de matériel biologique pour réaliser avec succès (en quelques minutes et à un coût modéré) l'identification bactérienne en plus d'une grande précision par rapport à l'analyse biochimique de routine (**Demir et Belarbi, 2020**).

## Conclusion

La synthèse des trois articles a confirmé que l'émission de lumière au sein des écosystèmes marins par les espèces qui y habitent, revient à une bactérie marine luminescente qui nommée *Vibrio. Fischeri*.

Les isolats bactériens obtenus par **Jabalamehli et al., 2015** et **Kannahi et al., 2014** à partir d'eau de mer c'est des bactérie *Vibrio. Fischer* libre et se développe dans une gamme de conditions en utilisant plusieurs substrats et l'enzyme luciférase et d'autres protéines des systèmes de luminescence bactériens. Les isolats de **Parmar et al., 2020** obtenus à partir du calamar affirme la présence de *Vibrio. Fischer* qui s'associe avec hôtes, forment un biofilm, et utilise son système Quorum Sensing pour activer les gènes de la luminescence chez l'hôte.

Ces résultats ont montré que les recherches sur le mécanisme de bioluminescence marine est la cible de nombreux domaines de recherche. Elle permet de mieux comprendre la pathogénèse microbienne et les associations de microbes dans l'environnement, exactement la communication intercellulaire bactérienne.

En biotechnologie, la bioluminescence a permis le développement de l'ATPmétrie. En effet, la luciférase est également utilisée comme gène marqueur dans le domaine médical, pour diagnostic de maladies ou la détection de bactéries dans un produit, détecter le taux d'alcoolisme ou les maladies hépatiques ou encore dans le domaine agro-alimentaire il est possible d'observer la présence de bactéries lors des contrôles d'hygiène et de stérilisation.

**Références bibliographiques :**

**Anne-Marie B. 2005**, LA BIOLUMINESCENCE CHEZ LES ANIMAUX.

**Alex Ranjith Kumar. 2010**. isolement de bactéries luminescentes du golfe du Bengale et leur caractérisation moléculaire collège universitaire de boras école d'ingénieurs.

**Boyle P., Knobloch D. 1983**. The female reproductive cycle of the octopus, Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 63: 71–83.

**Boettcher KJ., Ruby EG. 1990**. Émission de lumière déprimée par le *Vibrio fischeri* symbiotique du calmar sépiolidé *Euprymna scolopes*, 172 : 3701–3706.

**Boettcher KJ., Ruby EG. 1994**. Occurrence of plasmid DNA in the sepiolid squid, symbiote *Vibrio fischeri*. *Curr Microbiol*, 29:279–286.

**Bettencourt V., Coelho L., Andrade JP., Guerra A. 1996** Age and growth of the squid *Loligo vulgaris* off the south coast of Portugal using statolith analysis, *Journal of Molluscan Studies*, 62 :359–366.

**Boettcher KJ., Ruby EG., McFall-Ngai MJ. 1996**. La bioluminescence chez le calmar symbiotique *Euprymna scolopes* est contrôlée par un rythme biologique quotidien, 179: 65 73.

**Bemisa John. 2009**, thèse doctorant Dynamique des pêcheries traditionnelles d'anchois, de calmars et de poulpes du Sud-Ouest de Madagascar : utilisation d'outils océanographiques pour la gestion des ressources.

**Champiat D., Roux A., Lhomme O., Nosenzo G. 1994**. Biochimiluminescence and biomedical applications, *Cell Biology and Toxicology*, volume 10, 5-6.

**Champiat D. Roux A., Lhomme O., Nosenzo G. 1994**. *Cell Biology and Toxicology*, volume 10, p 345–351.

**Catherine P. 2006**. Les poissons de mer, Séa River.

**Delarras, Camille. 2014**. Pratique en microbiologie de laboratoire ? recherche de bactéries et de levures-Moisissures, Editions Lavoisier, p : 65-66-67- 111-113-114.

**Doberva M., Stien D., Sorres J., Hue N., Sanchez-Ferandin S., Eparvier V., Ferandin Y., Lebaron P, Lami R. 2017**. Large diversity and original structures of acyl-homoserine lactones in strain MOLA 401, a marine Rhodobacteraceae bacterium. *Frontiers in Microbiology*, 8:1152.

**Demir I, Belarbi S .2020**. Thèse master Isolement et identification des bactéries lactiques à partir des fruits et légumes frais, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

**Edward E roppert., Ricgard S fox., Robert D barns. 2004**. *Invzertebrat Zoology*, 7éd, 963 p.

- Faussek, V.** 1900. Untersuchungen über die Entwicklung der Cephalopoden. Mitt, Zool, 83–237.
- Fields W Gordon.** 1949. The spawning population of the squid *Loligo opalescens* Berry in Monterey Bay, Unpublished Master's thesis, Department of Biology, Stanford University.
- Guiraud G., Galzy P.** 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : l'Usine nouvelle, Paris : 240p.
- Graf J., Ruby EG.** 1998. Les acides aminés dérivés de l'hôte favorisent la prolifération des bactéries symbiotiques, Proc Natl Acad Sci USA, 95 :1818–1822.
- Guiraud J P.** 2003. Microbiologie Alimentaire. Tec &Doc, Dunod. Paris.90-292.
- Guessas B., Kihal M.** 2004. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk, African, Journal of Biotechnology,3(6): 339-342.
- Jones BW., Nishiguchi MK.** 2004. Contre-éclairage chez le calmar bobtail hawaïen, *Euprymna*, scolopes Berry (Mollusca: Cephalopoda), Mar Biol, 144: 1151–1155.
- Korschelt E., Heider K.** 1900. Textbook of the embryology of invertebrates, trans M. Bernard. London, Sonnenschein, Part IV, pp. 1–594.
- Leveau J-Y., Bouix Mrielle., De Roissart H.** 1991. La flore lactique In Technique# d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire, pp : 152-186.
- Lee KH., Ruby EG.** 1994. Effet de l'hôte calmar sur l'abondance et la distribution de *Vibrio fischeri* symbiotique dans la nature, Appl Environ Microbiol, 60 :1565–1571
- MacBride., Ernest W.** 1914. Textbook of embryology, Vol. I: Invertebrata, London, 692pp.
- Mangold, K.** 1983a. Food, feeding and growth in cephalopods, Memoirs of the National Museum,44, 81–93.
- McFall-Ngai MJ., Ruby EG.** 1991. Reconnaissance des symbiotes et morphogenèse ultérieure en tant qu'événements précoces dans un mutualisme animal-bactérien. Science, 254 : 1491–1494.
- Marchal N., Bourdon J.L., Richard CL.** 1991. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries, Dion éditeurs, Paris, 3ème Ed.
- Montgomery MK., McFall-Ngai M.** 1993. Développement embryonnaire de l'organe léger du Calmar sépiolidé *Euprymna scolopes* Berry, Biol Bull,184 : 296–308
- Moreno, A., Morais da Cunha, M., Pereira, JMF.** 1994. Population biology of veined squid (*Loligo forbesi*) and European squid (*Loligo vulgaris*) from the Portuguese coast Fisheries.

- McFall-Ngai MJ., Ruby EG.** 1998. Sépiolidés et vibrions : lors de leur première rencontre.
- Michael T., Madigan John., Martinko M., David Stahl., David P.** 2010. Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall, 13th Edition.
- Martini S., Haddock S.H.D.** 2017. Scientific Reports, Quantification of bioluminescence from the surface to the deep sea demonstrates its predominance as an ecological trait.
- Nesis, K.** 1987. Cephalopods of the world. Neptune city .
- Nyholm SV., McFall-Ngai MJ.** 1998. Échantillonnage du microenvironnement des organes lumineux d'Euprymna scolopes : description d'une population de cellules hôtes en association avec le symbiote bactérien *Vibrio fischeri*. Biol Bull, 195 : 89–97.
- Nyholm SV., Stabb EV., Ruby EG., McFall-Ngai MJ.** 2000. Établissement d'une association animal bactérie: recrutement de vibrions symbiotiques de l'environnement, Proc Natl Acad Sci USA, 97:10231–10235.
- Nyholm SV., Deplancke B., Gaskins HR., Apicella MA., McFall-Ngai MJ.** 2002. Rôles de *Vibrio Fischeri* et de bactéries non symbiotiques dans la dynamique de la sécrétion de mucus lors de la colonisation symbiote de l'organe lumineux *Euprymna scolopes*. Appl Environ Microbiol , 68 :5113–5122.
- Nyholm SV, Stewart JJ., Ruby EG., McFall-Ngai MJ.** 2009. Reconnaissance entre *Vibrio fischeri* symbiotique et les hémocytes d'*Euprymna scolopes*, Environ Microbiol 11 :483–493.
- Nidhi Srivaths.** 2022. <https://researchblog.duke.edu/>
- Olivier Salières.** 2021. ENERLAB Laboratory, Measurements of the level of biophoton emission of wines from different viti-vinicultural practices.
- Portmann Ad., Bidder M A.** 1928. Yolk-absorption in *Loligo* and the function of the embryonic liver and pancreas, 301–324.
- Peter Boyle., Paul Rodhouse.** 2008. Cephalopods: Ecology and Fisheries.
- Patrizia Jereb., Louise Allcock., Evgenia Lefkaditou ., Uwe Piatkowski ., Lee C hastie., Graham J Pierce.** 2015. Cephalopod biology and fisheries in Europe: II, Species Accounts, NO: 325
- Raven, Chr. P.** 1958. Morphogenesis: The analysis of molluscan development, New York, Pergamon, p 311.
- Ruby EG., Asato LM.** 1993. Croissance et flagellation de *Vibrio fischeri* lors de l'initiation de la symbiose des organes légers du calmar sépiolide, Arche Microbiol, 159 :160–167.

- Ruby EG.** 1996. Leçons d'une association coopérative, bactérie-animal : La symbiose vibrio fischeri–Euprymna scolopes organe léger. *Revue annuelle en microbiologie*, 50(1), 591–624.
- Rocha F., Guerra A.** 1999. Age and growth of two sympatric squid, *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi*, in Galician waters (north-west Spain), *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79, 697–707.
- Roger Hanlon., Mike Vecchion., Loise Allcock.** 2018. *Octopus, squid and cuttlefish : a visual scientific guide to the oceans most advanced invertebrates.*
- Rani. Gupta., Namita Gupta.** 2021. *Fundamentals of Bacterial Physiology and Metabolism*, Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Schipp, R.** 1987. General morphological and functional characteristics of the cephalopod circulatory system. An introduction, *Experientia*, 43 :474–477.
- Singleton P.** 1994. *Bactériologie*. Masson, 2eme édition, 231p.
- Stevens A.M., Greenberg EP.** 1997. Quorum sensing chez *Vibrio fischeri* : Éléments essentiels pour l'activation des gènes de luminescence, *Tourillon de bactériologie*, 179(2), 557–562.
- Shao CP., Hor LI.** 2001. Régulation de l'expression du gène de la métalloprotéase chez *Vibrio vulnificus* par un homologue LuxR de *Vibrio harveyi*, *Journal de bactériologie*, 183(4), 1369–1375.
- Stepanovic S., Vukovic D., Hola V., Di Bonaventura G., Djukic S., Cirkovic I., Ruzicka F.** 2007. Quantification du biofilm dans les plaques de microtitration : aperçu des conditions de test et recommandations pour l'évaluation de la production de biofilm par les staphylocoques. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 115 (8), 891–899.
- Saddikioui L.** 2019. Thèse doctorat, biologie de la reproduction (croissance et régime alimentaire).
- Wier AM., Nyholm SV., Mandel MJ., Massengo-Tiasse RP., Schaefer AL., Koroleva I Splinter Bondurant S., Brown B., Manzella L., Snir E., Almabrazi H., Scheetz TE Bonaldo Mde F., Casavant TL., Soares MB., Cronan JE., Reed JL., Ruby EG, McFall-Ngai MJ.** 2010. Les modèles de transcription chez l'hôte et la bactérie sous-tendent un rythme quotidien de changement anatomique et métabolique dans une symbiose bénéfique, *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 :2259–2264.
- Jordi Chias.** [https://uwaterphoto.com/?lens\\_gallery=mammals](https://uwaterphoto.com/?lens_gallery=mammals) .
- Photopoésie,** <https://www.flickr.com/photos/7208148@N02/8647943001>

## Résumé

La bioluminescence est une caractéristique fonctionnelle importante des organismes marins pour la communication visuelle. De nombreuses fonctions différentes biologiques et écologiques ont été proposées pour l'utilisation de ce phénomène par 30 à 41% des organismes benthiques, pélagiques et le milieu profond à plus de 500 mètres. Cette émission de lumière est d'origine bactérienne bioluminescente, aquatique, colonise et symbiose les organes des espèces marines telle que le calamar (*Loligo vulgaris*) qui utilisent la bioluminescence libérée d'elles pour se déguiser en interrompant l'ombre qui l'entoure par une lumière impeccable. Les trois articles traités visent à affirmer que la source de lumière émise par les organismes de mer et la bactérie *Vibrio. Fischeri* par différents tests phénotypiques, biochimiques, physiologiques et génotypiques. Les résultats des trois articles étudiés confirment que les souches et une bactérie *Vibrio. Fischeri* qui symbiose bénéfiquement le calamar et d'autre espèces aquatiques.

Mots clés : Bioluminescence, Symbiose, *Vibrio. Fischeri*, calamar.

## Abstract

Bioluminescence is an important functional characteristic of marine organisms for visual communication. Many different biological and ecological functions have been proposed for the use of this phenomenon by 30 to 41% of benthic, pelagic and deep-sea organisms below 500 meters. This emission of light and of origin a bioluminescent bacterium, aquatic, colonizes and symbiosis the organs of the marine spaces that use the bioluminescence released from them to disguise itself interrupting the shadow that surrounds it by a flawless light. The three treated articles aim to affirm that the source of light emitted by the organisms of sea and the bacterium *Vibrio.Fischeri* by different phenotypic, biochemical, physiological and genotypic tests. The results of the three articles studied confirm that the strains that symbiotically benefit squid and other aquatic

species and make them bright is the bacterium *Vibrio. Fischeri*.

Key words: Bioluminescence, Symbiosis, *Vibrio. Fischeri*, squid.

## ملخص

يعد التوهج سمة وظيفية مهمة للكائنات البحرية للاتصال المرئي. تم اقتراح العديد من الوظائف البيولوجية والبيئية المختلفة لاستخدامات هذه الظاهرة لـ 30-41% من الكائنات القاعية والسطحية وعلى أعماق تصل إلى 500 متر وأعمق. هذه البكتيريا المائية الأصلية، الباعثة للضوء، ذات الإضاءة الحيوية تستعمل وتتعايش مع أعضاء من الفضاء البحري الذين يستخدمون التلألؤ الحيوي المنبعث منها لإخفاء أنفسهم عن طريق مقاطعة الظل الذي يحيط بهم بضوء لا ينقطع. تهدف الدراسات الثلاث المعالجة إلى التأكد من أن مصدر الضوء المنبعث انه من البكتيريا البحرية *Vibrio. Fischeri* عن طريق الاختبارات المظهرية والكيميائية الحيوية والفسولوجية والوراثية. تؤكد نتائج المقالات الثلاثة التي تمت دراستها أن السلالات والبكتيريا التي تتعايش بشكل مفيد مع الحبار والأنواع المائية الأخرى تجعلها تتوهج هي *Vibrio. Fischeri*.

الكلمات المفتاحية: التوهج، تعايش، *Vibrio. Fischeri*، الحبار