

# Ultrastructure et changements cytologiques des photophores du requin liche, *Dalatias licha*, durant l'émission de lumière

Nuyt Charlotte

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme  
de Master en Biologie des Organismes et Ecologie

Promoteur : Jérôme Mallefet (UCLouvain)

Co-promoteur : Jérôme Delroisse (UMONS)

Sous la supervision de : Laurent Duchatelet (UCLouvain)

Année académique 2021 – 2022

## **Remerciements**

J'aimerais tout d'abord remercier Jérôme Delroisse pour m'avoir guidée dans la réalisation et l'écriture de ce mémoire, pour avoir répondu à toutes mes questions, pour m'avoir appris à utiliser les différentes techniques et machines nécessaires et pour sa grande disponibilité tout au long du mémoire.

Je remercie également Laurent Duchatelet pour ses conseils avisés, pour m'avoir fait découvrir ce sujet d'étude ainsi que pour sa grande disponibilité pour répondre à mes questions et pour m'avoir aiguillée dans l'écriture de ce mémoire.

Je remercie également les membres du laboratoire de biologie marine de l'UCLouvain et les membres du laboratoire de biologie des organismes marins et biomimétisme de l'UMONS pour l'accueil, l'aide et la bonne ambiance qui régnait sur le lieu de travail. Merci à Jérôme Mallefet pour ses conseils. Merci à Nathan Puozzo pour son aide en ayant réalisé un schéma 3D pour ce mémoire.

Merci aux membres du jury Jérôme Mallefet, Jérôme Delroisse, Ulrich Martin, Patrick Flammang et Frédéric Silvestre pour la lecture et l'évaluation de ce mémoire.

Je tiens également à remercier mes parents et Romaric pour leurs corrections et leur relecture attentive.

Merci à Quentin de m'avoir écouté parler de bioluminescence pendant un an.

Enfin, merci à Tiana, Vanessa et Mathilde pour ces sessions de travail intenses entremêlées avec l'exploration des organismes roscovites.

## Ultrastructure and cytological changes of the kitefin shark, *Dalatias licha*, photophores during light emission

### Abstract

Bioluminescence is an important ecological trait in the sea as it is produced by a very large number of organisms including three families of sharks, the Etmopteridae, Dalatiidae, and Somniosidae. The kitefin shark, *Dalatias licha* (Bonnaterre, 1788), is a deep-sea shark from the Dalatiidae family recognized as being the biggest luminous vertebrate known to date. This study investigate the ultrastructure and hormonal control of the light organ (photophore) of *D. licha*. The study was driven by the comparison with the available data for the other species *Etmopterus spinax*, an etmopterid shark, to give a better understanding of the light emission process and its evolutive conservation within shark families. We describe the ultrastructure of its photophores and the morphological changes occurring after a hormonal stimulation through melatonin, known to trigger light emission, and  $\alpha$ -MSH, a light emission inhibitor. The photophores are spherical and located within the epidermis. They are composed of an iris-like structure associated with a spherical pigmented sheath encompassing a unique regionalized light emitting cell, the photocyte. The photocyte basal area contains a granular area filled with granular inclusions which appear to be the same glowon-type microsomes as found in *E. spinax* and would thus be the intracellular site of light emission. A large spherical and acidophilic secretion is also observed within the granular area and could be involved in photogenesis. The ultrastructure analysis reveals neither lens cells nor reticular layer contrary to the Etmopteridae photophore, further showing the simpler organization of Dalatiidae photophore. Moreover, morphological changes between hormonal treatments have been observed. Melatonin stimulation shows a removal of the pigments of the ILS-associated melanophores at the top of the photophore and an increase in the granular inclusions diameter and coverage in the granular area, further confirming that this last area is the potential site of light emission. Conversely,  $\alpha$ -MSH stimulation causes the dispersion of the melanophores pigments and a decrease in the granular inclusions diameter and coverage. These results support evolutive conservation of photophore organization across luminous sharks.

## Ultrastructure et modifications cytologiques des photophores du requin liche, *Dalatias licha*, durant l'émission de lumière

### Résumé

La bioluminescence est un trait écologique important dans les milieux marins, produite par un très grand nombre d'organismes dont trois familles de requins, les Etmopteridae, les Dalatiidae, et les Somniosidae. Le requin liche, *Dalatias licha* (Bonnaterre, 1788), est un requin des profondeurs de la famille des Dalatiidae reconnu comme étant le plus grand vertébré lumineux connu à ce jour. Cette étude compare l'organe lumineux (photophore) de *D. licha* avec l'ultrastructure et le contrôle hormonal connus des photophores d'*Etmopterus spinax* afin d'améliorer la compréhension du processus d'émission de lumière et sa conservation évolutive au sein des familles de requins lumineux. Dans cette étude, nous décrivons l'ultrastructure de ses photophores et les changements morphologiques survenant après une stimulation hormonale par la mélatonine, connue pour déclencher l'émission de lumière, et l' $\alpha$ -MSH, un inhibiteur de l'émission lumineuse. Les photophores sont sphériques et situés dans l'épiderme. Ils sont composés d'une structure en forme d'iris associée à une gaine pigmentée sphérique englobant entièrement une unique cellule émettrice de lumière, le photocyte, qui est régionalisée. La zone basale du photocyte contient une zone granulaire remplie d'inclusions granulaires, qui semblent être les mêmes microsources, les glowons, que celles trouvées chez *E. spinax*, et elle serait donc le site intracellulaire de l'émission de lumière. Une large sécrétion sphérique et acidophile est également observée au sein de la zone granulaire et pourrait être impliquée dans la photogenèse. L'analyse de l'ultrastructure ne révèle ni cellules de la lentille, ni couche réticulaire, contrairement au photophore des Etmopteridae, montrant ainsi l'organisation plus simple du photophore des Dalatiidae. De plus, des changements morphologiques entre les traitements hormonaux ont été observés. Une stimulation par la mélatonine montre un retrait des pigments des mélanophores associés à l'ILS au sommet du photophore et une augmentation du diamètre des inclusions granulaires et de leur couverture dans la zone granulaire, confirmant encore que cette dernière zone est le site potentiel d'émission de lumière. A l'inverse, la stimulation par l' $\alpha$ -MSH provoque la dispersion des pigments des mélanophores au sommet du photophore et une diminution du diamètre et de la couverture des inclusions granulaires. Ces résultats soutiennent la conservation évolutive de l'organisation des photophores chez les requins lumineux.

# TABLE DES MATIERES

---

1	Introduction.....	6
1.1	Avant-propos.....	6
1.2	Bioluminescence : une vision globale.....	6
1.2.1	Diversité et distribution des organismes bioluminescents .....	6
1.2.2	Fonctions écologiques de la bioluminescence .....	8
1.2.3	Composés biochimiques impliqués .....	10
1.2.4	Types de structures photogéniques .....	14
1.2.5	Contrôle de l'émission lumineuse .....	19
1.3	Bioluminescence des requins .....	21
1.3.1	Généralités sur les requins lumineux .....	21
1.3.2	Disposition des organes lumineux.....	24
1.3.3	Structure des organes lumineux.....	27
1.3.4	Fonctions de la bioluminescence chez les requins.....	32
1.3.5	Contrôle de la bioluminescence chez les requins .....	33
1.4	Organisme d'intérêt : Dalatias licha .....	38
1.4.1	Distribution et biologie.....	38
1.4.2	Bioluminescence.....	40
1.5	Objectifs .....	41
2	Matériels et méthodes .....	42
2.1	Populations étudiées.....	42
2.2	Traitements pharmacologiques .....	43
2.3	Analyse ultrastructurale .....	43
2.3.1	Décalcification et post-fixation des tissus .....	43
2.3.2	Enrobage.....	44
2.3.3	Coupes et contrastage.....	44
2.3.4	Analyse des coupes - Statistiques .....	44
3	Résultats.....	46
3.1	Organisation ultrastructurale des organes lumineux.....	46
3.1.1	Structure du photophore .....	46
3.1.2	Photocyte .....	49
3.1.3	Couche pigmentaire .....	52
3.2	Modifications morphologiques sous traitement hormonal .....	53
3.2.1	Stimulation par la mélatonine.....	54
3.2.2	Inhibition par l' $\alpha$ -MSH .....	58

3.2.3	Comparaisons des inclusions granulaires en fonction des traitements MT et $\alpha$ -MSH .	62
3.3	Premier aperçu de l'ultrastructure d' <i>Etmopterus lucifer</i> .....	64
4	Discussion .....	67
4.1	Ultrastructure comparée des Dalatiidae et Etmopteridae .....	67
4.2	Changements cytologiques durant l'émission lumineuse.....	74
4.3	Acquisition de la bioluminescence chez les requins lumineux .....	78
5	Conclusion et Perspectives.....	80
	Bibliographie .....	83

# 1 INTRODUCTION

---

## 1.1 AVANT-PROPOS

Le monde de la recherche sur la bioluminescence est vaste et complexe. L'étude de l'ultrastructure et du contrôle hormonal du requin lumineux *Dalatias licha* comprend des aspects morphologiques, physiologiques et biochimiques. Cette introduction est un état de l'art qui s'est voulu extensif afin d'illustrer les différentes manières d'appréhender ce sujet d'étude et de permettre aux lecteurs de s'y familiariser.

## 1.2 BIOLUMINESCENCE : UNE VISION GLOBALE

### 1.2.1 Diversité et distribution des organismes bioluminescents

De part et d'autre des océans se produit un phénomène intéressant, certains organismes sont capables d'émettre leur propre lumière : ils sont bioluminescents. La bioluminescence est l'émission de lumière visible produite via une réaction chimique au sein d'un organisme vivant (Haddock *et al.*, 2010). De manière générale, cette réaction de luminescence, ou photogénèse, se produit via l'oxydation d'un substrat, la luciférine, grâce à un catalyseur enzymatique, la luciférase (voir section 1.1.c; Shimomura, 2012). Ce phénomène est très répandu et se retrouve dans près de 10 000 espèces appartenant à 800 genres différents. Les espèces lumineuses appartiennent à des phylums très distincts comprenant par exemple les bactéries, les algues unicellulaires, les champignons, ainsi que des animaux comme les cnidaires, les échinodermes, les cténophores, les arthropodes, les mollusques, les chondrichthyens et les ostéichthyens (Fig. 1 ; Herring, 1987; Hastings, 2012; Fleiss et Sarkisyan, 2019). La majorité des organismes bioluminescents sont retrouvés dans les écosystèmes marins. En effet, au sein des genres bioluminescents connus, 80% sont marins (Widder, 2010). Dans les environnements terrestres, la bioluminescence est plus rare et concernerait moins de 0,2% de l'ensemble des genres (Hastings, 2012). Les arthropodes comportent plusieurs espèces bioluminescentes dont la luciole qui est un exemple d'espèce terrestre lumineuse bien connue. Au niveau des écosystèmes d'eau douce, la bioluminescence est presque inexistante (Haddock *et al.*, 2010), elle est uniquement retrouvée chez le gastéropode du genre *Latia* (Kaskova *et al.*, 2016).

La bioluminescence se produit à tous les niveaux dans les océans, autant dans la zone pélagique, correspondant à la colonne d'eau, que dans la zone benthique, correspondant aux fonds marins. C'est au niveau mésopélagique, compris entre 200 et 1000 m de profondeur, que la

bioluminescence est la plus répandue (Herring et Widder, 2001; Hastings, 2012). Au total, de la surface jusqu'à une profondeur de 3900 m, couvrant ainsi l'entièreté de la zone pélagique, Martini et Haddock (2017) ont montré que 76% des individus observés étaient bioluminescents. Sous la zone mésopélagique, à partir de 1000 m de profondeur, il n'y a plus de rayons lumineux visibles provenant du soleil faisant que la bioluminescence y est la seule source de lumière (Widder, 2010). La bioluminescence a un spectre d'émission situé majoritairement dans les couleurs bleu-vert (autour de 470 nm), qui sont les longueurs d'onde se transmettant le mieux à travers l'eau des océans et pouvant être perçues par les pigments visuels des organismes marins (Widder, 2010).



**Figure 1.** La diversité des organismes bioluminescents. a) Bactéries bioluminescentes cultivées sur une boîte de Pétri ; b) Des radiolaires polycystiniques coloniaux ; c) L'hydroméduse *Aequorea victoria*; d)

*Le siphonophore Erenna sp.*; e) *Le polychète Tomopteris, qui émet une luminescence jaune* ; f) *Larve planctonique du ver du gland Ptychodera flava*; g) *Fluorescence montrant les photophores d'Aequorea coerulescens* ; h) *Calamar vampire Vampyroteuthis infernalis* ; i) *Le chaetognathe Caecosagitta macrocephala* ; j) *Le cténophore Beroe forskalii n'a pas de bioluminescence mais montre un arc-en-ciel de couleurs structurelles* ; k) *Le calamar Abraliopsis sp.* ; l) *Le poisson Porichthys notatus (photo de Jérôme Mallefet)* ; m) *Le krill Thysanoessa sp.*; n) *La baudroie Chaenophryne longiceps* ; o) *Lrostracode Conchoecia sp.* ; p) *Poisson de la famille Sternoptychidae* ; q) *Le grand copépode Gaussia princeps*; r) *Poisson de la famille Myctophidae* ; s) *Un poisson Tactostoma sp., en lumière blanche, et t) sous éclairage fluorescent, montrant les photophores rouges et verts. Issue de Haddock et al. (2010) et en (l) une photo de Jérôme Mallefet y a été ajoutée.*

Une série de photographies provenant de la revue sur la bioluminescence de Haddock *et al.* (2010) reprend différents types d'organismes marins bioluminescents, montrant la grande diversité d'individus phylogénétiquement distants ayant acquis ce trait (**Fig. 1**). Les organismes bioluminescents peuvent produire leur propre bioluminescence (appelée bioluminescence intrinsèque) ou être l'hôte de bactéries symbiotiques responsables de l'émission lumineuse (appelée bioluminescence extrinsèque; Haddock *et al.*, 2010).

La bioluminescence est donc une caractéristique très représentée au sein des océans et y est, de ce fait, une forme de communication écologiquement importante.

### 1.2.2 Fonctions écologiques de la bioluminescence

La bioluminescence est une forme de communication intra- et interspécifique efficace au sein des océans et peut servir à trois catégories de fonction écologique : la défense contre des prédateurs, la prédation ainsi que la communication intraspécifique (Widder, 2010; Haddock *et al.*, 2010).

Tout d'abord, d'un point de vue défensif, la bioluminescence peut être utilisée pour échapper aux prédateurs via des techniques diverses comme le camouflage, l'intimidation, la diversion ou encore la dissuasion (Hastings, 2012). Les organismes se camouflent via le phénomène de contre-illumination qui est très commun chez les crustacés, poissons et céphalopodes (Haddock *et al.*, 2010). Ces organismes possèdent des organes lumineux (photophores) ventraux qui émettent une lumière qui correspond à la faible lumière descendant depuis la surface des océans au niveau intensité, angle de distribution et longueur d'onde. Ainsi, ces organismes peuvent faire disparaître l'ombre de leur silhouette pour que les prédateurs nageant en dessous d'eux ne les remarquent pas (Herring, 1977; Haddock *et al.*, 2010; Widder, 2010). Une autre technique est l'intimidation du prédateur via des flash lumineux qui vont le surprendre. Les flashes

lumineux peuvent également rendre le prédateur initial vulnérable en attirant de plus grands prédateurs (Haddock *et al.*, 2010). C'est par exemple le principe du *burglar alarm* : les dinoflagellés émettent des flashes rapides lorsqu'une menace est présente permettant ainsi d'augmenter la prédation sur leur propre prédateur (Hastings, 2012). Ensuite, concernant les mécanismes de diversion, ils sont assez variés. La sécrétion d'un nuage lumineux peut être émise par des organismes comme les crevettes ou les siphonophores leur permettant ainsi de s'échapper pendant que leur prédateur est aveuglé et distrait (Widder, 2010; Haddock *et al.*, 2010). Les ophiures ou le calamar de mer profonde (*Octopoteuthis deletron*) peuvent détacher une partie luminescente de leur corps, qui se régénérera par la suite, afin de distraire le prédateur trompé par la lumière et s'enfuir (Haddock *et al.*, 2010; Hastings, 2012). Enfin, une proie peut dissuader un prédateur de l'attaquer par le principe d'aposématisme qui avertit le prédateur du danger que représente la proie. Cette fonction est bénéfique pour les deux organismes, la proie garantit sa survie tandis que le prédateur évite de se nourrir d'un individu désagréable à manger (Grober, 1988; Marek *et al.*, 2011; Hastings, 2012).

La bioluminescence peut également être utilisée à des fins de prédatons en surprenant, éclairant ou en attirant la proie (Hastings, 2012). Des flash lumineux, utilisés également comme technique de défense, peuvent servir à surprendre et étourdir la proie. Les prédateurs utilisent également leur luminescence pour éclairer leur proie pour les aider à la repérer et la capturer. C'est le cas du poisson-phare *Photoblepharon palpebratum* ou *Anomalops katoptron* de la famille des Anomalopidae qui repèrent leurs proies en les éclairant via de larges photophores situés au niveau des orbites qui contiennent des bactéries bioluminescentes (Haddock *et al.*, 2010; Herring et Widder, 2001; Hellinger *et al.*, 2017). Au sein des poissons Stomiiformes, les poissons-dragons comme *Malacosteus niger* illuminent également leurs proies dans un but de prédation (Fig. 1.s). Ils sont capables d'émettre une lumière rouge (702 nm) grâce à une protéine filtre fluorescente modifiant leur spectre d'émission lumineuse (Widder, 2010). Cette longueur d'onde n'est pas visible pour la plupart des animaux au sein des océans. Cela crée donc un grand avantage pour ces individus qui sont capables de percevoir cette lumière et de s'en servir pour éclairer leurs proies sans être repérés (Campbell *et al.*, 1987; Herring et Widder, 2001; Haddock *et al.*, 2010). Le dernier mécanisme est l'utilisation de leurre lumineux pour attirer les proies. C'est le cas des poisson-pêcheurs, ou Lophiiformes, qui possèdent au sein de leur esca, qui est situé au-dessus du premier rayon de la nageoire dorsale, des bactéries luminescentes. La luminescence des bactéries va attirer les proies qui se retrouveront à proximité de la bouche du prédateur (Haddock *et al.*, 2010; Paitio *et al.*, 2016). Les calamars du genre *Chiroteuthis*

utilisent également un leurre bioluminescent avec des organes lumineux spéciaux qui pendent au bout de leurs tentacules (Haddock *et al.*, 2010).

Enfin, la dernière grande fonction de la bioluminescence reprise ici est la communication intraspécifique pour l'accouplement et la reconnaissance entre espèces. Par exemple, les mâles ostracodes produisent des sécrétions lumineuses spécifiques à chaque espèce sous la forme d'une sorte d'échelle lumineuse ayant pour but d'attirer les femelles (Hastings, 2012). Du dimorphisme sexuel est également présent chez certaines espèces. Chez le requin *Etmopterus spinax*, les deux sexes ont une zone pelvienne qui diffère d'un point de vue bioluminescent (Claes et Mallefet, 2009c). La bioluminescence sert également à la reconnaissance intraspécifique chez le poisson-lanterne via leurs photophores latéraux et la sélection sexuelle des Leionathidae (Sparks *et al.*, 2005 ; Davis *et al.*, 2014).

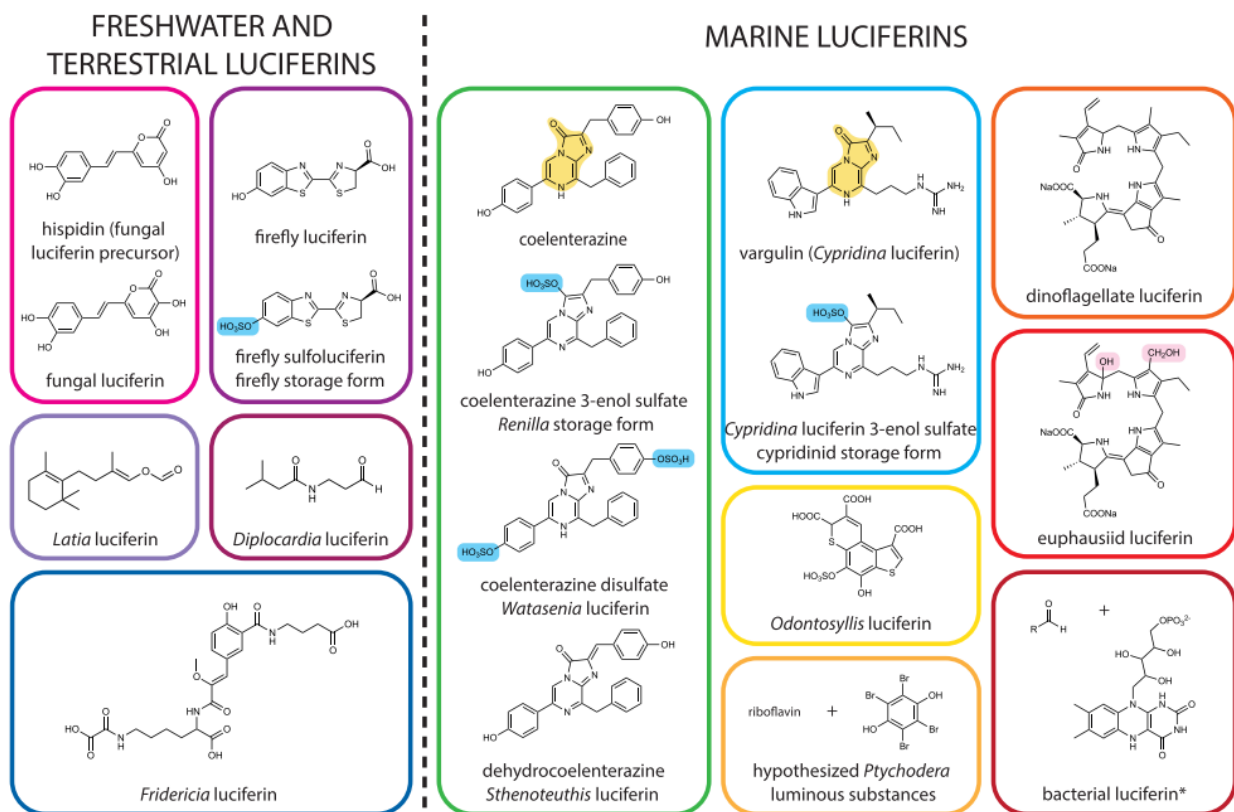
En conclusion, la bioluminescence régit un nombre important de relations, tant au niveau des interactions proie-prédateur qu'entre les espèces elles-mêmes. La lumière produite par un organisme peut être utilisée de différentes manières pour différentes fonctions (Hastings, 2012).

### 1.2.3 Composés biochimiques impliqués

Une grande diversité d'organismes sont capables d'émettre de la lumière dont les propriétés spectrales sont généralement comprises dans des longueurs d'onde de couleur bleu-vert (470 nm) au sein des océans (Haddock *et al.*, 2010). Ce sont ces couleurs qui pénètrent le mieux l'eau des océans (Herring et Widder, 2001). La bioluminescence est une lumière froide, ce qui signifie que l'excès d'énergie de la réaction chimique est émis sous forme de lumière et non de chaleur. C'est une réaction de type chemiluminescente et il ne faut pas la confondre avec la fluorescence et la phosphorescence qui ont elles besoin d'absorber suffisamment d'énergie de photons provenant d'une source de lumière externe pour pouvoir ensuite en réémettre à une plus grande longueur d'onde (Haddock *et al.* 2010).

Différents composés sont impliqués dans la production de bioluminescence et des molécules secondaires peuvent modifier la longueur d'onde émise. La réaction générale de la bioluminescence se réalise grâce à la luciférine, une molécule organique qui produit de la lumière après oxydation (d'oxygène moléculaire) catalysée par une luciférase (Kaskova *et al.*, 2016). La luciférine se retrouve dans un état excité, l'oxyluciférine, puis émet de la lumière en retournant vers son état fondamental (Kaskova *et al.*, 2016). Ce système a été découvert chez le mollusque *Pholas* par Dubois en 1887 (Herring, 1977). Un second système implique des photoprotéines plutôt que les luciférases. Ce sont des complexes enzyme-substrat assemblés en

une seule unité et ne nécessitant pas de catalyseur pour l'émission lumineuse mais des ions métalliques ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) servant de cofacteurs déclencheurs (Shimomura, 2012; Kaskova *et al.*, 2016). La première photoprotéine a été découverte chez l'hydroméduse *Aequoria victoria*, nommée aequorine. C'est également chez *A. victoria* que la Green Fluorescent Protein (GFP) a été découverte et extraite par Shimomura (Haddock *et al.*, 2010; Widder 2010; Shimomura, 2012). Les protéines fluorescentes comme la GFP ou la protéine fluorescente rouge de *M. niger* peuvent modifier la couleur de l'émission lumineuse vers des longueurs d'onde plus élevées en interagissant avec la luciférase (Fleiss et Sarkisyan, 2019).



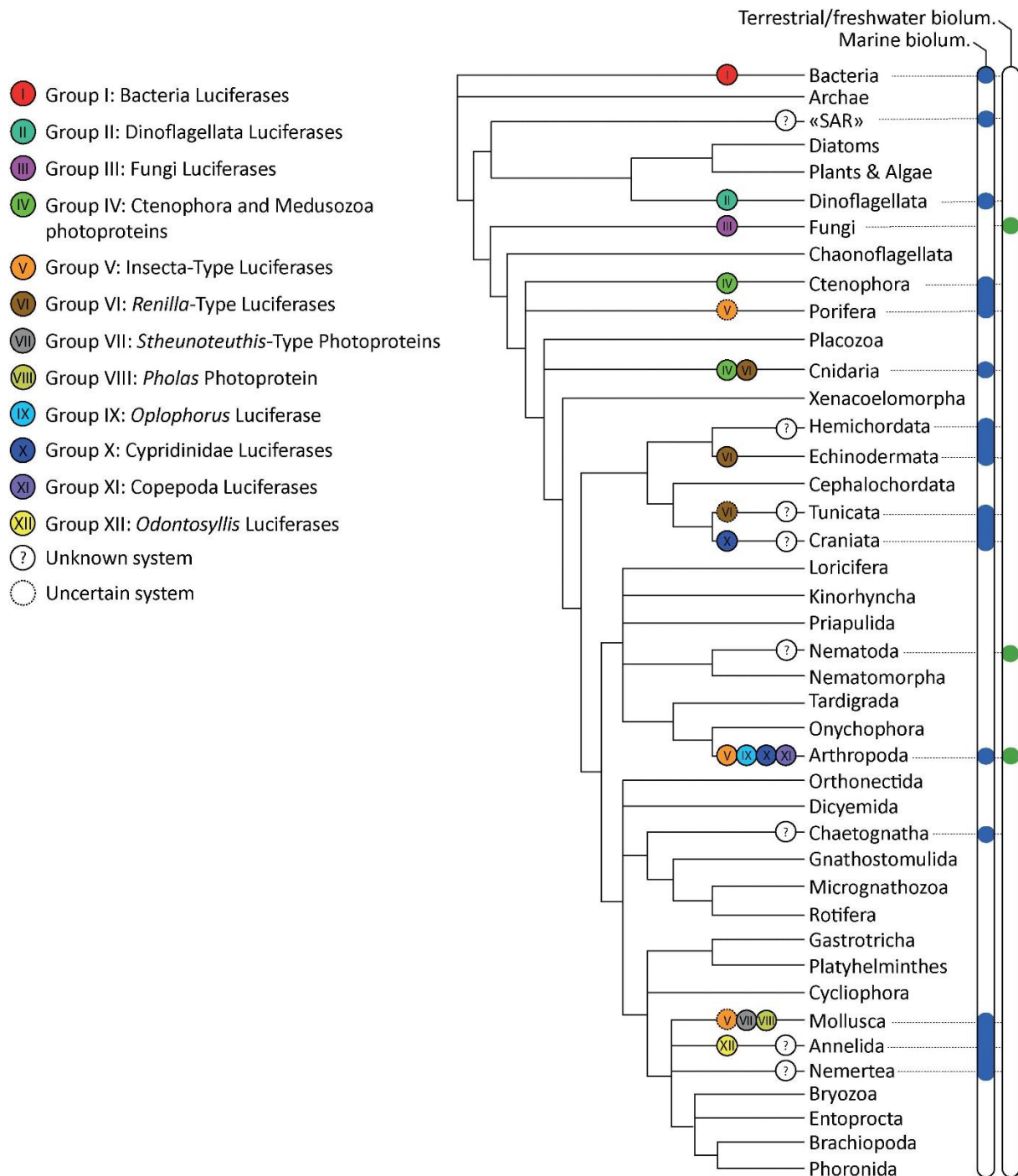
**Figure 2.** Structures chimiques des 11 luciférines connues. Le noyau imidazopyrazine partagé par la coelentérazine et la varguline est surligné en jaune. Les luciférines sont regroupées par appartenance à des écosystèmes marins ou terrestres et eau douce. Issue de Lau et Oakley (2021).

Au regard des systèmes bioluminescents existant dans la nature, la bioluminescence aurait évolué indépendamment au moins 94 fois parmi les organismes connus pour être bioluminescents (Lau et Oakley, 2020; Delroisse *et al.*, 2021b). Malgré la grande diversité d'organismes bioluminescents, la luciférine est très conservée à travers les phylums. Ainsi, plusieurs organismes marins non-apparentés taxonomiquement utilisent les mêmes luciférines (Haddock *et al.*, 2010; Herring, 1977). Ce sont les molécules de luciférine qui vont principalement déterminer la couleur et les différentes caractéristiques de l'émission lumineuse

(Haddock *et al.*, 2010; Fleiss et Sarkisyan, 2019). Dans la nature, les structures de 11 différents types de luciférine sont à ce jour connues (**Fig. 2**), à savoir : la coelentérazine, la luciférine *Cypridina*, la luciférine des bactéries, la luciférine des dinoflagellés et du krill, la luciférine d'*Odontosyllis*, celle de *Ptychodera* ainsi que la D-luciférine, la luciférine des champignons, et les luciférines *Latia*, *Diplocardia* et *Fridericia heliota*. (Kaskova *et al.*, 2016; Lau et Oakley, 2020; Delroisse *et al.*, 2021b). Les six premières luciférines citées sont utilisées dans les écosystèmes marins, alors que les cinq autres sont retrouvées dans des environnements terrestres et d'eau douce (**Fig. 2**).

Le fonctionnement des luciférines les plus présentes au sein des écosystèmes marins est développé ci-après. La coelentérazine est la luciférine la plus largement utilisée dans les milieux marins (Haddock *et al.*, 2010). En effet, elle serait utilisée comme substrat de plusieurs luciférases ayant évolué indépendamment chez des organismes phylogénétiquement distants provenant d'au moins 9 phylums différents (Haddock *et al.*, 2010; Fleiss et Sarkisyan, 2019). La coelentérazine est une imidazopyrazine (**Fig. 2**) synthétisée à partir de trois acides aminés : deux résidus de tyrosine ainsi qu'un résidu de phénylalanine. Cette luciférine émet dans les longueurs d'onde entre 450 et 500 nm après oxydation en oxyluciférine (coelentéramide) (Fleiss et Sarkisyan, 2019; Kaskova *et al.*, 2016). Certains organismes, comme les crustacés, peuvent synthétiser de la coelentérazine mais la plupart des animaux semblent l'obtenir via l'alimentation (Lau et Oakley, 2020), comme cela a par exemple été montré chez *A. filiformis* (Mallefet *et al.*, 2020). La luciférine de l'ostracode *Cypridina*, aussi appelée varguline, est, comme la coelentérazine, une imidazopyrazine (**Fig. 2**) formée de trois acides aminés : le tryptophane, l'isoleucine et l'arginine (Widder, 2010). Elle se fait oxyder par des luciférases (Kaskova *et al.*, 2016) et émet une lumière de couleur bleue. Elle est synthétisée par les ostracodes et est également acquise via l'alimentation chez certains poissons (ex. *Porichthys notatus*) (Herring, 1977; Fleiss et Sarkisyan, 2019). Une autre luciférine commune dans les océans est celle des bactéries. Elle est composée de deux substrats, une flavine mononucléotide (FMN) avec une longue chaîne d'aldéhyde aliphatique (Widder, 2010), qui se font oxyder par l'oxygène moléculaire et une luciférase. La réaction produit une lumière bleue (490 nm) (Fleiss et Sarkisyan, 2019). A la fin de l'émission lumineuse, la FMN est restaurée et l'aldéhyde a été consommé mais est synthétisé continuellement par les bactéries qui restent donc constamment luminescentes (Widder, 2010; Kaskova *et al.*, 2016). Toutes les bactéries luminescentes, qu'elles soient symbiotiques ou libres, utilisent ce même mécanisme (Fleiss et Sarkisyan, 2019). La dernière luciférine commune au sein des océans est la luciférine des dinoflagellés.

Ces organismes unicellulaires proviendraient d'espèces photosynthétiques au vue des similarités retrouvées avec la structure de la chlorophylle (Dunlap *et al.*, 1981; Widder, 2010). Cette luciférine est basée sur un tétrapyrrole dont le mécanisme biosynthétique reste encore inconnu. Dans l'ordre des Euphausiacés, le krill utilise la même luciférine et s'en procure via son alimentation en dinoflagellés (Widder, 2010; Haddock *et al.*, 2010; Fleiss et Sarkisyan, 2019). Après l'oxydation par la luciférase, la luciférine émet une lumière bleue d'environ 475 nm en retournant à son état d'excitation initial (Valiadi et Iglesias-Rodriguez, 2013).



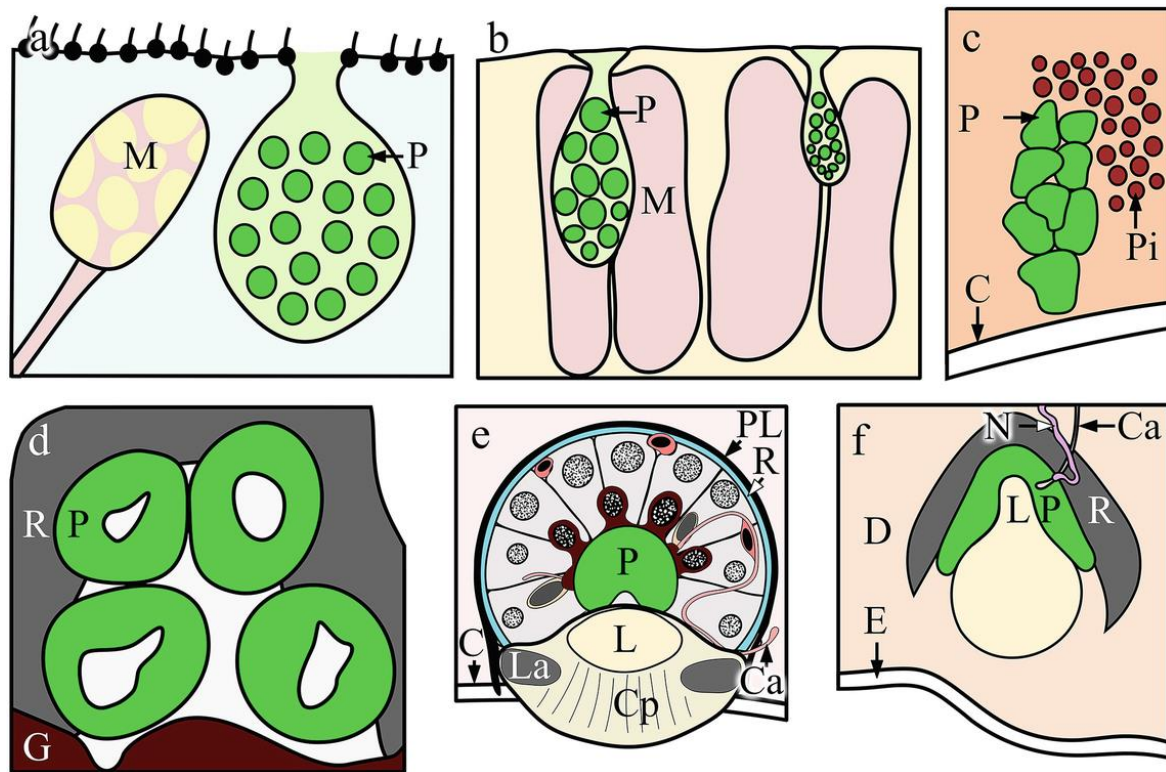
**Figure 3.** Les 12 groupes de luciférase et photoprotéines représentés au sein de l'arbre de vie des organismes bioluminescents terrestres et d'eau douce (en vert) et marins (en bleu). Issue de Delroisse *et al.* (2021b).

Les luciférines sont très conservées à travers les espèces. Initialement, les luciférase et les photoprotéines étaient considérées comme étant spécifiques à chaque clade et dérivant ainsi de nombreuses lignées évolutives (Haddock *et al.*, 2010). La bioluminescence étant un trait s'étant acquis de manière convergente, des organismes phylogénétiquement proches peuvent utiliser des enzymes très diverses et non homologues pour la photogénèse (Haddock *et al.*, 2010; Delroisse *et al.*, 2021b). Récemment, Delroisse *et al.* (2021b) ont décrit 12 types différents de protéines bioluminescentes homologues (luciférase et photoprotéines) qui seraient apparues indépendamment durant l'évolution et utilisés par des organismes de taxons distincts (**Fig. 3**). Cette classification s'est réalisée sur base de recherches de similarité entre les séquences de luciférase et photoprotéines connues afin d'identifier des protéines homologues. Un même groupe de luciférase et photoprotéine s'avère donc pouvoir être utilisé par plusieurs organismes phylogénétiquement distants (Delroisse *et al.*, 2021b). Par exemple, dans le groupe VI, la luciférase de type *Renilla* se retrouve dans le système bioluminescent des cnidaires, des échinodermes et dans celui des tuniciers (Delroisse *et al.*, 2021b).

#### 1.2.4 Types de structures photogéniques

A travers les différentes fonctions relevant de la bioluminescence, nous pouvons remarquer que les organes lumineux des différents organismes varient en termes de structure et de localisation. On distingue différents types de structures photogéniques : les photocytes et les photophores qui sont des organes lumineux plus élaborés pouvant contenir soit des photocytes soit des bactéries et composés de structures accessoires complexes. Paitio et Oba, (2021) ont schématisé une variété de structures photogéniques à travers différents taxa (**Fig. 4**).

Les photocytes sont des cellules luminescentes uniques qui peuvent être ou non regroupées au sein des photophores. Les organismes unicellulaires comme les dinoflagellés ou les bactéries constituent en eux-mêmes le photocyte, (Wilson et Hastings, 1998; Valiadi et Iglesias-Rodriguez, 2013; Paitio et Oba, 2021). D'autres organismes tels que les Pennatules et les ophiures ne possèdent pas non plus de photophore élaboré mais uniquement des photocytes dispersés dans des zones de tissus lumineux. Ils sont généralement situés au niveau de l'épithélium (Wilson et Hastings, 1998).



**Figure 4.** Illustrations schématiques de la diversité des structures photogéniques. (a) *Cnidaria Pelagia*. (b) *Tubeworm Chaetopterus*. (c) *Amphipod Paraproneo*. (d) Larve du champignon gnat *Arachnocampa*. (e) *Euphausiidae*. (f) *Porichthys*. M : cellule muqueuse, P : photocyte, Pi : cellules pigmentées, C : cuticle, R : réflecteur, G : intestin, PL : couche pigmentaire, L : lentille, La : anneau laminaire ; Cp : capuchon, Ca : capillaire, N : nerfs, D : derme, E : épiderme. Issue de (Paitio et Oba (2021).

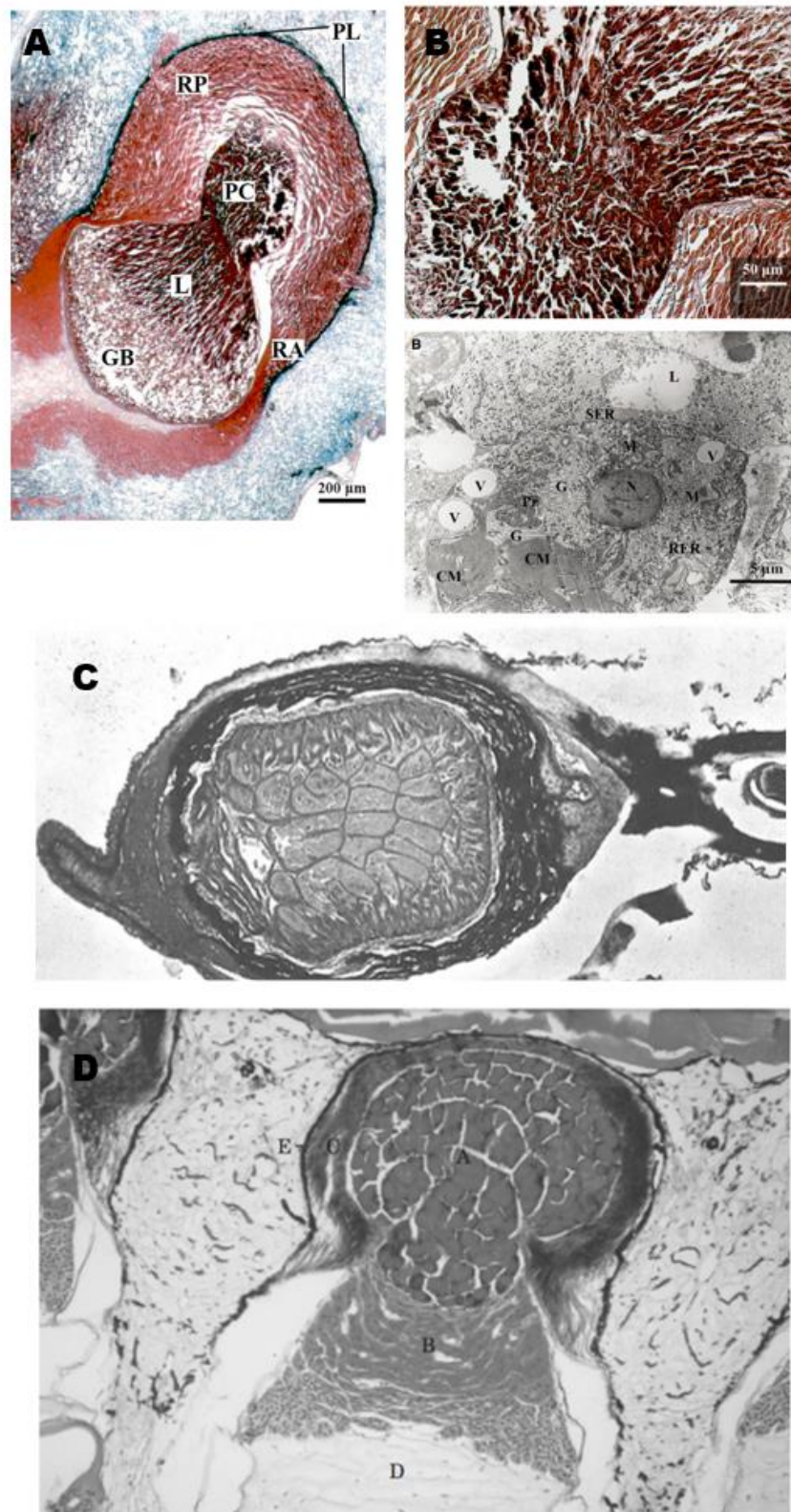
Chez les crustacés, les poissons osseux et cartilagineux et les céphalopodes, les photocytes sont regroupés au sein d'un organe lumineux complexe, le photophore, qui peut posséder des structures accessoires comme la lentille, la couche pigmentaire, le réflecteur et le filtre (**Fig. 4 et 5**) qui vont permettre de moduler l'émission lumineuse qui est produite au sein du photocyte au niveau de la direction ou des caractéristiques spectrales (Dental *et al.*, 1985; Herring, 2000; Herring et Widder, 2001; Krönström, 2009). La fonction de la lentille, située au sommet du photophore, serait de concentrer la lumière émise par l'organe lumineux et de la guider vers l'environnement extérieur (Denton *et al.*, 1970; Cavallero *et al.*, 2004). Autour de l'ensemble de l'organe lumineux se trouve la couche pigmentaire. Elle est généralement composée de mélanophores composés de granules de mélanine qui absorbent la lumière émise et protègent ainsi les tissus internes de l'organisme (Cavallero *et al.*, 2004; Paitio et Oba, 2021). Le réflecteur réfléchirait la lumière émise vers la lentille externe de manière diffuse ou spéculaire (Herring, 2000). Beaucoup de poissons, céphalopodes et crustacés possèdent des photophores

ventraux utilisés pour la contre-illumination (Denton *et al.*, 1985; Davis *et al.*, 2014). Pour ce faire, lorsque la lumière passe à travers les filtres (et certains réflecteurs pigmentés), les pigments qui s'y trouvent filtrent la lumière émise et ajustent la longueur d'onde d'émission pour correspondre à celle de la lumière résiduelle sous-marine (Denton *et al.*, 1985; Herring et Widder, 2001; Paitio *et al.*, 2016). Les filtres pigmentaires peuvent être rougeâtres chez *Valenciennellus*, lilas chez *Argyropelecus*, mauves chez *Opisthoproctus* ou bleus chez *Sergestes*. Un autre exemple de filtre pigmentaire qui modifie la composition spectrale est celui induisant l'émission de lumière rouge chez les photophores suborbitaux de *M. niger* (Denton *et al.*, 1985) dont la potentielle fonction écologique a été vue au point 1.1.2.

Les organismes produisant leur propre luminescence via les photocytes isolés ou photophores sont dits bioluminescents intrinsèques. Les photophores sont des cellules glandulaires et l'émission de lumière peut être contenue dans l'organe lumineux (sécrétion intracellulaire) ou peut également être sécrétée vers le milieu extérieur (sécrétion extracellulaire; Bassot, 1966; Cavallero *et al.*, 2004). C'est le cas des crevettes décapodes de mer profonde qui sécrètent un nuage lumineux dans l'eau afin d'éblouir leur prédateur et s'enfuir (Herring et Widder, 2001). Au-delà de 1000 m de profondeur la plupart des organismes possède des photophores ventraux pour la contre-illumination ainsi que des organes permettant de produire un jet luminescent en dehors de leur corps (Herring et Widder, 2001).

Tous les organismes bioluminescents ne produisent pas de la lumière intrinsèquement, certains contiennent des bactéries qui en produisent pour eux. Ce type d'organe lumineux est retrouvé chez les céphalopodes et les poissons (Herring, 1977; Herring *et al.*, 1981). Les bactéries stockées dans les photophores de l'hôte, au niveau de la chambre photogénique, vivent en relation symbiotique (Paitio *et al.*, 2016). En effet, elles y trouvent un environnement adéquat fournissant des nutriments pour leur croissance et émettent de la lumière en échange (Hastings, 2012). Des calmars possèdent des bactéries au niveau de leurs photophores ventraux (Herring et Widder, 2001) et d'autres céphalopodes comme le *Sepiolo atlantica* possèdent des bactéries symbiotiques luminescentes (identifiées comme étant *Photobacterium fischeri*) dans le sac d'encre au niveau de poches épithéliales (Herring *et al.*, 1981). C'est également le cas des Lophiiformes (p. ex. *Melanocetus johnsonii*, **Fig. 5.C**) qui en hébergent au niveau de leur esca ou du poisson du genre *Photoblepharon* au sein de grandes poches localisées sous leurs yeux (Bassot, 1966 ; Haddock *et al.*, 2010). Ces types d'organes lumineux contenant des bactéries sont ouverts vers l'environnement extérieur via des pores afin de permettre à l'hôte de relâcher les bactéries qui ne maintiennent pas une production de lumière adéquate (Haddock *et al.*, 2010;

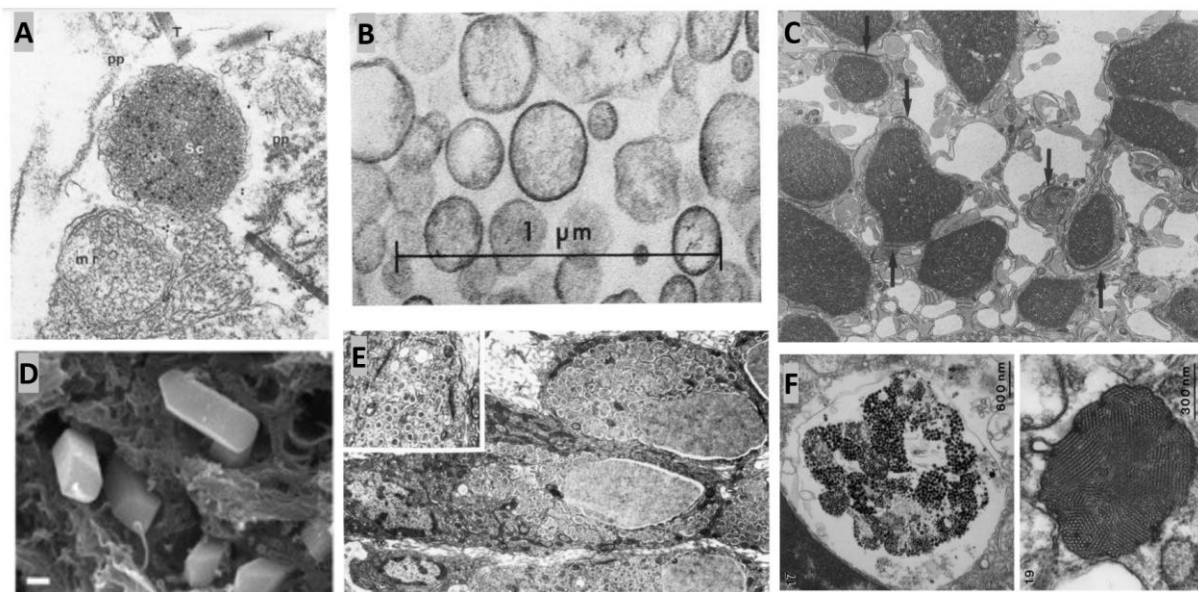
Herring et Widder, 2001; Paitio *et al.*, 2016). D'autres poissons ont des photophores ouverts au niveau de la lumière de leur intestin (Herring, 1977; Herring et Widder, 2001).



**Figure 5.** Diversité des photophores : coupes histologiques d'un photophore du calamar *Histioteuthis bonnellii* (A et B), du poisson *Melanocetus johnsonii* (C) et du poisson *Argyropelecus*

*hemigymnus* (**D**). **A**) Section longitudinale du photophore d'*H. bonnellii* en grossissement  $\times 10$ . PC : chambre photogénique, L : lentille, Ra : coupe antérieur du réflecteur, Rp : coupe postérieur du réflecteur, PL : couche pigmentaire, GB : corps gélatineux. Issue de Cavallero et al. (2016). **B**) Photocytes en grossissement  $\times 40$  (haut) et  $\times 2500$  au microscope électronique à transmission (bas). N : noyau, RER : réticulum endoplasmique rugueux, SER : réticulum endoplasmique lisse, G : appareil de Golgi, Rb : ribosomes, CM : membranes en citernes. Issue de Cavallero et al. (2016). **C**) Grossissement  $\times 70$  d'un photophore de *M. johnsonii* montrant au centre la masse centrale de la culture bactérienne. Issue de Bassot (1966). **D**) Section longitudinale en grossissement  $\times 220$  d'un photophore d'*A. hemigymnus*. A : chambre photogénique, B : lentille, C : réflecteur, D : corps gélatineux, E : couche pigmentaire. Issue de Cavallero et al. (2004).

Nous avons vu l'organisation générale des types de structures photogéniques, les photocytes et les photophores contenant des photocytes ou des bactéries dont les localisations et structures varient en fonction des espèces. De plus, l'ultrastructure d'une variété d'espèces lumineuses a été décrite et permet une analyse détaillée des tissus composant le photophore (**Fig. 5.B.**) et ainsi une meilleure compréhension du mécanisme de bioluminescence.



**Figure 6.** Diversité de micro-sources émettrices de lumière observées au microscope électronique. **A**) Scintillon (Sc) de *Gonyaulax polyedra* (Dinoflagellés). Ce sont des organelles cytoplasmiques sous forme de vésicules sphériques d'environ  $0,4 \mu\text{m}$ . ; Echelle =  $0,2 \mu\text{m}$ . Issue de Nicolas et al. (1987). **B**) Lumisomes de *Renilla reniformis* (Cnidaires). Organelles entourés d'une membrane de diamètre d'environ  $0,2 \mu\text{m}$ . Issue de Anderson et Cormier (1973). **C**) Photosomes de *Harnothoe lunulata* (Annélides). Ils sont constitués de tubules du réticulum endoplasmique disposés en réseau paracristallin et d'environ  $1$  à  $5 \mu\text{m}$  de diamètre. Issue de Bassot et Nicolas (1995). **D**) Microcristal en forme de bâtonnets de *Watasenia scintillans* (Mollusques), de  $2$  à  $6 \mu\text{m}$  de long et de  $1$  à  $2 \mu\text{m}$  d'épaisseur. Echelle

de 1  $\mu\text{m}$ . Issue de Hamanaka et al. (2011). **E**) Vésicules photocytaires de *Porichthys notatus* (Ostéychiens). Photocyte avec ses vésicules sécrétrices (zoom en haut à gauche) constituant les micro-sources. Issue de Anctil (1977). **F**) Vésicules cytoplasmiques type C (gauche) et D (droite) d'*Amphipholis squamata* (Echinodermes), 2 types de vésicules présents durant (type C, petites vésicules sphériques d'environ 5  $\mu\text{m}$  de diamètre) et à la fin de la réaction (type D, cellules cylindriques larges d'environ 30  $\mu\text{m}$  de long et 10  $\mu\text{m}$  de diamètre) de luminescence, les types C se transformant probablement en type D à la fin de la réaction. Issue de Deheyn et al. (2000).

L'analyse ultrastructurale des photophores de *Porichthys notatus* a par exemple permis d'observer la présence d'innervation (Strum, 1969). Également, l'analyse ultrastructurale des photocytes a permis d'identifier la présence de micro-sources en leur sein. Les micro-sources sont les sites au sein desquels se trouvent les réactifs nécessaires (c-à-d. le substrat et l'enzyme) à la photogénèse (Renwart et al., 2015; Delroisse et al., 2017). Il existe une grande variété de micro-sources à travers les organismes en termes de forme et mode de fonctionnement (**Fig. 6**). Par exemple, les dinoflagellés, dont la cellule en elle-même constitue le photocyte, émettent de la lumière via des structures granulaires cytoplasmiques, les scintillons (DeSa et Hastings, 1968; Nicolas et al., 1987; Valiadi et Iglesias-Rodriguez, 2013). On retrouve également des lumisomes chez les cnidaires (Anderson et Cormier, 1973), les glowons chez les requins (Renart et al., 2014) ainsi que d'autres structures décrites en Figure 6. L'ultrastructure des photocytes et des micro-sources chez les requins a uniquement été étudiée chez les Etmopteridae pour l'espèce *Etmopterus spinax* (Renwart et al., 2014) comme décrit par après dans la section 1.2. consacrée aux requins lumineux.

### 1.2.5 Contrôle de l'émission lumineuse

Les structures impliquées dans la bioluminescence diffèrent entre les organismes et c'est également le cas pour le contrôle de l'émission lumineuse. Les organismes peuvent choisir d'« allumer » ou « éteindre » leurs photophores, moduler l'intensité de l'émission lumineuse, sa couleur ainsi que son angle de distribution (Haddock et al., 2010). Le contrôle de la bioluminescence peut se réaliser par voie mécanique ou par voie physiologique.

Premièrement, des stimulations mécaniques peuvent contrôler l'émission lumineuse. Cela se produit chez les dinoflagellés, chez qui un stress physique déforme la membrane ce qui va engendrer une cascade de réactions impliquant des récepteurs couplés aux protéines-G, des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et des ions  $\text{H}^+$  qui vont activer la réaction de bioluminescence (Haddock et al., 2010). Les bactéries symbiotiques bioluminescentes produisent une lumière constante, les organismes hôtes doivent donc développer des mécanismes pour contrôler leur luminescence (Herring,

1977). Au sein de la famille des Anomalopidae, il y a la possibilité d'occulter l'émission lumineuse des bactéries via la rotation du photophore chez les espèces *Anomalops* ou via une membrane élastique, mobile et contenant des chromatophores (Paitio *et al.*, 2016) qui va recouvrir la face lumineuse de l'organe chez les espèces du genre *Photoblepharon* (Johnson et Rosenblatt, 1988). Un autre mécanisme de régulation serait fonction de l'apport en oxygène par le sang au sein du photophore chez les Lophiiformes (Herring, 1977; Mensinger, 2011).

Deuxièmement, la régulation de la bioluminescence peut se faire via un contrôle physiologique. On y distingue trois types de mécanismes : le *quorum sensing* (c.-à-d. la détection de quorum) des bactéries, le contrôle nerveux et le contrôle hormonal.

Les bactéries bioluminescentes ont un type de contrôle spécifique nommé le *quorum sensing* qui signifie que leur bioluminescence est dépendante de la densité de la population (Wilson et Hastings, 1998). Les bactéries émettent continuellement un composé auto-inducteur dans l'environnement. A partir d'un certain seuil, les cellules détectent qu'il y en a en suffisance ce qui va activer les gènes responsables de la bioluminescence retrouvés dans l'opéron *lux* (Wilson et Hastings, 1998; Tanet *et al.*, 2019). Les bactéries bioluminescentes émettent donc spontanément et de manière continue de la lumière lorsqu'elles sont suffisamment nombreuses. A noter qu'il a été récemment montré que ce mécanisme n'est pas commun à l'ensemble des bactéries bioluminescentes (Tanet *et al.*, 2019).

Ensuite, chez beaucoup d'organismes c'est le système nerveux qui contrôle la bioluminescence (Haddock *et al.*, 2010). Une grande diversité de neurotransmetteurs sont impliqués au sein des différents taxons.

Tout d'abord, de nombreux mécanismes de contrôle cholinergiques existent au sein des annélides (Gouveneaux et Mallefet, 2013). Par exemple, *Tomopteris helgolandica*, qui est un polychète marin émettant une lumière jaune, stimule sa bioluminescence grâce à l'acétylcholine ainsi que le carbachol (Gouveneaux et Mallefet, 2013). Un contrôle cholinergique est également retrouvé chez le cténophore *Menmiopsis leidy* (Anctil, 1985) ainsi que chez les échinodermes (Vanderlinden et Mallefet, 2004). En effet, chez les ophiures *Amphipholis squamata* et *Amphiura filiformis*, l'acétylcholine est le principal neurotransmetteur responsable du déclenchement de l'émission lumineuse (Vanderlinden et Mallefet, 2004). Il a été montré que les ophiures ne partagent pas le même mécanisme de contrôle nerveux de la bioluminescence entre les différentes espèces, même chez celles étroitement apparentées (Dewael et Mallefet, 2002 ; Dupont *et al.*, 2004). Par exemple, *O. californica* régule sa

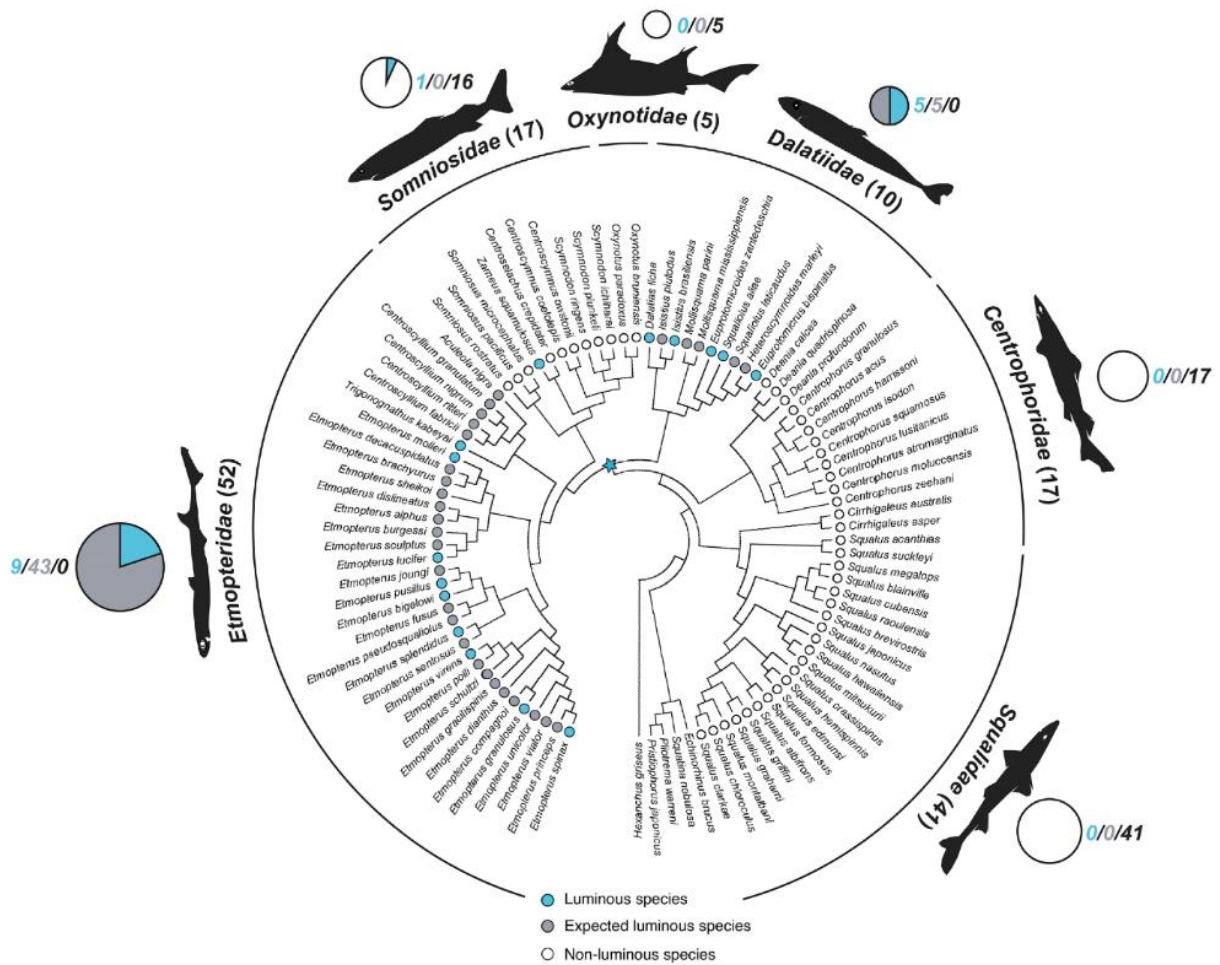
bioluminescence uniquement via la tryptamine et n'a pas de contrôle cholinergique comme *A. squamata* et *A. filiformis* (Vanderlinden et Mallefet, 2004; Krönström, 2009). D'autres neuromédiateurs comme l'adrénaline, des neuropeptides SALMFamide S1 et S2 ou des acides aminés régulent l'émission lumineuse d'*A. squamata*. De l'autre côté, chez *A. filiformis*, il a été montré que la tryptamine et l'octopamine, des amines biogènes, stimulent également sa luminescence (Vanderlinden et Mallefet, 2004). L'octopamine est aussi un neurotransmetteur connu pour stimuler la bioluminescence chez les lucioles. Elles utilisent également l'oxyde nitrique (NO) dans le contrôle de leur émission lumineuse (Krönström, 2009). Le NO régule également la bioluminescence d'un autre arthropode, le krill *Meganyctiphanes norvegica*, ainsi que celle de plusieurs poissons (Krönstrom *et al.*, 2007 ; Krönström et Mallefet, 2010). La bioluminescence de *M. norvegica* est également stimulée par la sérotonine, aussi appelée 5-hydroxytryptamine (5-HT) (Krönström *et al.*, 2007). Comparativement à *M. norvegica*, le poisson *Porichthys notatus* montre chez lui un effet inhibiteur de la sérotonine (Krönström, 2009). Nous terminons la vue d'ensemble des différents neurotransmetteurs chez les poissons osseux où plusieurs espèces contrôlent leur bioluminescence via les catécholamines et via l'oxyde nitrique (Krönström, 2009 ; Krönström et Mallefet, 2010). Par exemple, chez les espèces *Argyroteleus hemigymnus*, *Maurolicus muelleri* et *Porichthys notatus*, la noradrénaline et l'adrénaline stimulent la bioluminescence qui est également modulée par l'oxyde nitrique (Krönström, 2009 ; Krönström et Mallefet, 2010; Mallefet *et al.*, 2019). Un large panel de neurotransmetteurs est donc responsable du contrôle et de la modulation de l'émission lumineuse.

Le troisième type de contrôle physiologique se réalise via des hormones. Ce mécanisme de contrôle est uniquement retrouvé chez les poissons cartilagineux dans la sous-classe des élaémobranches et sera plus amplement développé dans la section 1.2.5 (Claes et Mallefet, 2010).

## 1.3 BIOLUMINESCENCE DES REQUINS

### 1.3.1 Généralités sur les requins lumineux

Parmi les nombreux organismes bioluminescents, 6% des poissons cartilagineux (Chondrichthyens) sont bioluminescents contre 70 % des poissons osseux (Ostéichthyens) en zone mésopélagique (Claes et Mallefet, 2009a).



**Figure 7.** Distribution de la bioluminescence au sein des familles de Squaliformes. A l'intérieur de l'arbre, les cercles bleus représentent les espèces identifiées comme bioluminescentes, les cercles gris les espèces supposées bioluminescentes et les cercles blancs les espèces non-bioluminescentes. A l'extérieur de l'arbre, les cercles représentent la proportion des espèces identifiées comme bioluminescentes (bleu), supposées bioluminescentes (gris) et non-bioluminescentes (blanc) avec le nombre d'espèces correspondant à chaque catégorie indiquée. L'origine supposée de l'acquisition de la bioluminescence chez les requins est indiquée d'une étoile bleue. Issue de Duchatelet et al. (2021b).

Au sein des chondrichthyens, la bioluminescence se retrouve dans la sous-classe des élasmobranches et est absente de la sous-classe des holocéphales (les chimères). Au sein des élasmobranches, de nombreuses espèces de Squaliformes ont été identifiées comme bioluminescentes (Straube et al., 2015) ainsi qu'une unique raie, *Benthobatis moresbyi* (Claes et Mallefet, 2009a) bien que l'étude de Carvalho et al. (2003) n'ait pas confirmé sa bioluminescence. Les requins squaliformes représentent 27% de la diversité des requins et comprennent plus de 130 espèces décrites au sein de 24 genres (Straube et al., 2015). Trois familles de requins de l'ordre des Squaliformes présentent des individus bioluminescents, à savoir : les Etmopteridae, les Dalatiidae, et les Somniosidae. Au sein des familles des Dalatiidae

et des Etmopteridae se retrouvent respectivement 10 et 52 espèces appartenant à 7 et 4 genres, qui sont toutes supposées luminescentes (Claes et Mallefet, 2009a ; Duchatelet *et al.*, 2021b). La capacité de bioluminescence de la troisième famille avait été supposée par Straube *et al.* (2015) et, récemment, l'étude de Duchatelet *et al.* (2021a) a permis de confirmer le statut bioluminescent des Somniosidae en enregistrant *in vivo* la luminescence de l'espèce *Zameus squamulosus*.

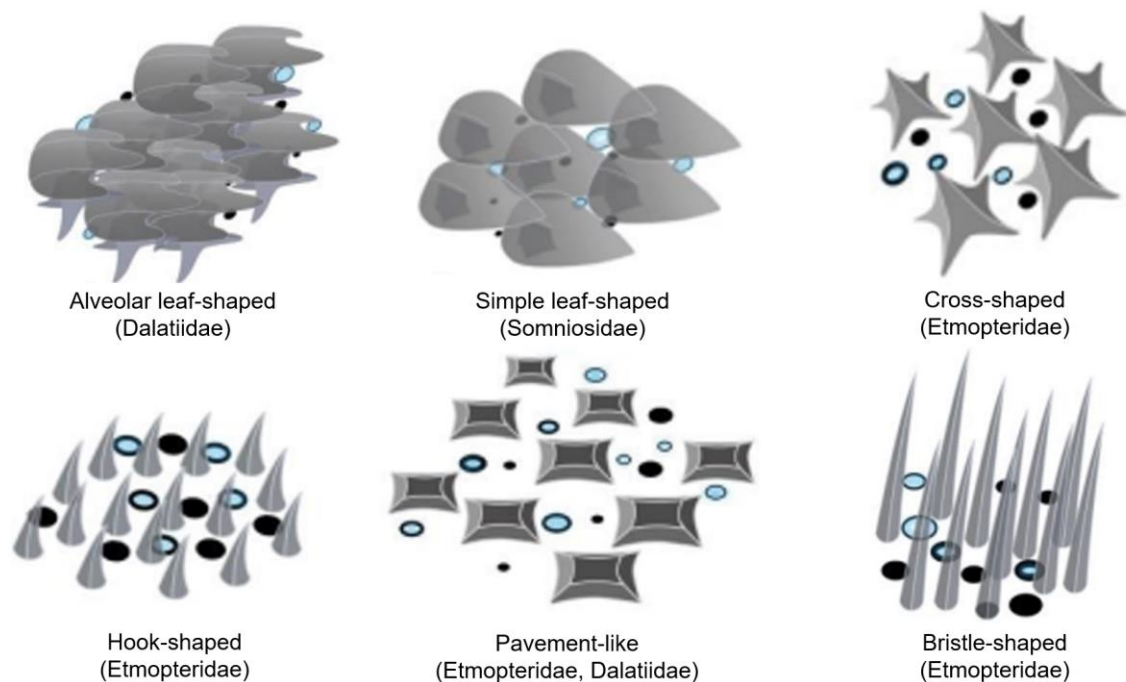
Nous verrons que le contrôle de l'émission lumineuse (section 1.1.5) est assez homogène entre les familles de requins bioluminescents et que la structure des photophores est également similaire au sein de chaque famille (section 1.1.3), suggérant une conservation au cours de l'évolution du processus de bioluminescence entre les requins lumineux (Mallefet *et al.*, 2021). L'acquisition de la bioluminescence aurait eu lieu au Crétacé au moment de la radiation des Squaliformes (Straube *et al.*, 2015; Duchatelet *et al.*, 2021b) et ne serait donc pas un événement évolutif ayant eu lieu indépendamment dans chaque famille (**Fig. 7**). Les familles Etmopteridae, Dalatiidae et Somniosidae auraient divergé durant le Crétacé Supérieur des autres espèces de Squaliformes il y a 65-90 millions d'années, 65-105 millions d'années et 24-64 millions d'années respectivement (Straube *et al.*, 2015; Duchatelet *et al.* 2021b). La diversification des requins aurait commencé après l'extinction permienne, au même moment où les Squaliformes auraient investi de nouveaux habitats marins profonds, ce qui pourrait avoir facilité l'acquisition de la bioluminescence (Sorenson *et al.*, 2014; Straube *et al.*, 2015).

Distribuées à travers le monde, les trois familles se retrouvent dans l'ensemble de la colonne d'eau (c.-à-d. la zone pélagique) et particulièrement à plus de 200 m de profondeur (Claes et Mallefet, 2009a; Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021). Les individus de l'ordre des Squaliformes ne dépassent généralement pas une longueur de 60 cm mais, dans la famille des Dalatiidae, *Dalatias licha* peut mesurer jusqu'à 180 cm, lui donnant le statut du plus grand vertébré bioluminescent connu à ce jour (Mallefet *et al.*, 2021).

La bioluminescence des requins est intrinsèque, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas l'hôte de bactéries bioluminescentes et qu'ils émettent leur propre émission lumineuse (Claes et Mallefet, 2009a; Renwart *et al.*, 2014; Duchatelet *et al.*, 2019). L'émission lumineuse se produit au sein de photophores contenant un (Dalatiidae et Somniosidae) ou plusieurs photocytes (Etmopteridae) et dont la structure sera détaillée par la suite (voir section 1.2.3) (Renwart *et al.*, 2014). Au niveau des paramètres physico-chimiques de leur luminescence, les Dalatiidae et Etmopteridae produisent une lumière bleu-verte dont les longueurs d'onde sont situées entre

455 et 486 nm (Claes *et al.*, 2014; Mallefet *et al.*, 2021). Les Etmopteridae semblent émettre une lumière de plus grande longueur d'onde que les Dalatiidae (Claes et Mallefet, 2009a). En effet, les espèces d'Etmopteridae, ou requin-lanterne, *Etmopterus splendidus*, *E. molleri*, et *E. spinax* produisent respectivement une lumière de longueur d'onde maximale de 476 nm, 477 nm et 486 nm (Claes *et al.*, 2014), tandis que les Dalatiidae, *Isistius brasiliensis* et *Squaliolus aliae* émettent une longueur d'onde maximale de 455 nm et 457 nm (Claes *et al.*, 2014). La nature des composants (enzymes, substrats ou photoprotéines) utilisés dans la réaction de bioluminescence des requins est encore largement inconnue (Duchatelet *et al.*, 2021a, 2021b). Une étude de Renwart *et al.* (2013) rejette en tout cas l'utilisation de la coelentérazine pour la bioluminescence de l'espèce *Etmopterus spinax*.

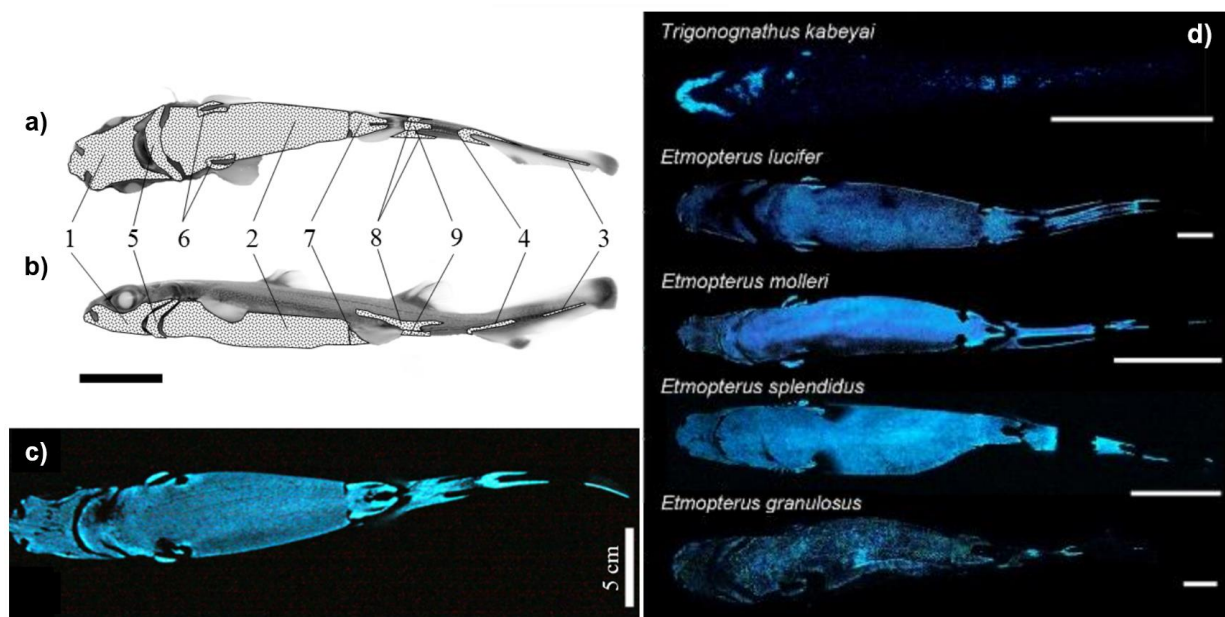
### 1.3.2 Disposition des organes lumineux



**Figure 8.** Les différents types d'agencement des écailles placoides avec les photophores des trois familles de requin lumineux. Les photophores sont représentés par les cercles bleus (photophore ouvert) et noirs (photophore fermé). Issue et modifiée de Duchatelet *et al.* (2021b).

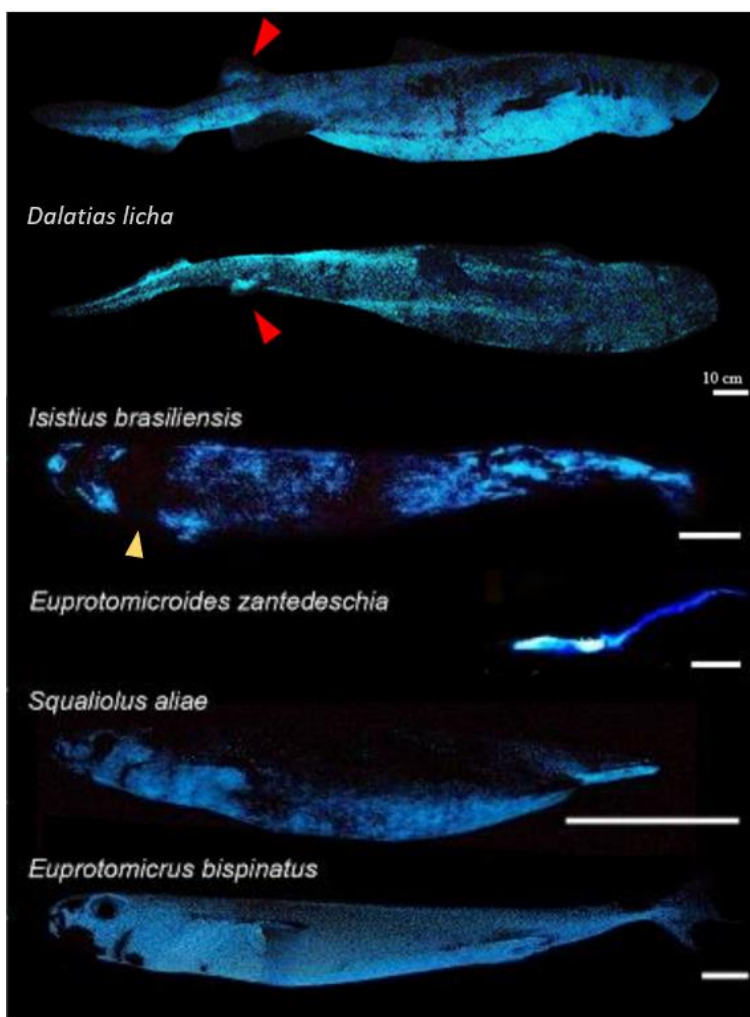
La peau des requins est constituée de denticules dermiques, ou écailles placoides, qui permettent de se défendre contre les parasites et les prédateurs et également d'améliorer l'hydrodynamique des requins (Claes et Mallefet, 2009a). Chez les requins bioluminescents, il existe six modèles d'agencement des écailles placoides (**Fig. 8**) qui ont évolué pour permettre un compromis avec l'espace occupé par les milliers de photophores disposés entre elles au sein de l'épiderme (Reif, 1985 ; Claes et Mallefet, 2009a ; Duchatelet *et al.*, 2021b). Ils seraient si

spécifiques aux espèces lumineuses qu'ils pourraient permettre de déterminer le statut bioluminescent d'un requin (Claes et Mallefet, 2009a). Le type d'agencement d'écaille *simple leaf-shaped* (en forme de feuille simple) a été découvert récemment sur le rostre de *Dalatias licha* (Mallefet *et al.*, 2021) ressemblant à l'agencement *alveolar leaf-shaped* (en forme de feuille alvéolaire) de *Zameus squamulosus* (Straube *et al.*, 2015). Ce type d'agencement est en forme de feuilles qui se chevauchent et recouvrent les photophores, nécessitant donc que les écailles placoïdes soient très translucides pour laisser passer la lumière (Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021). Les écailles en forme de feuilles alvéolaires présentent des zones en nid d'abeille à haute transmission et des arêtes à faible transmission de lumière créant un halo de lumière uniforme (Duchatelet *et al.*, 2021a). Par ailleurs, un requin non-bioluminescent *Apristurus ampliceps* présente un agencement de denticules du même type que celui des requins lumineux (Ferrón *et al.*, 2018). Cette caractéristique est donc à utiliser avec prudence pour déterminer le statut lumineux d'un requin (Mallefet *et al.*, 2021).



**Figure 9.** Motifs lumineux chez les Etmopteridae. a), b) et c) Position des neuf zones lumineuses d'*Etmopterus spinax* avec a) la face ventrale, b) le flanc latéral et c) la face ventrale lumineuse. 1 : rostrale, 2 : ventrale, 3 : caudale, 4 : infra-caudale, 5 : mandibulaire, 6 : pectorale, 7 : pelvienne, 8 : latérale, 9 : infra-pelvienne. Échelles a) et b) = 2 cm. d) Motifs lumineux des autres espèces d'Etmopteridae, les différentes échelles correspondent à 5 cm. Issues de Claes et Mallefet (2009a) et Duchatelet *et al.* (2021b).

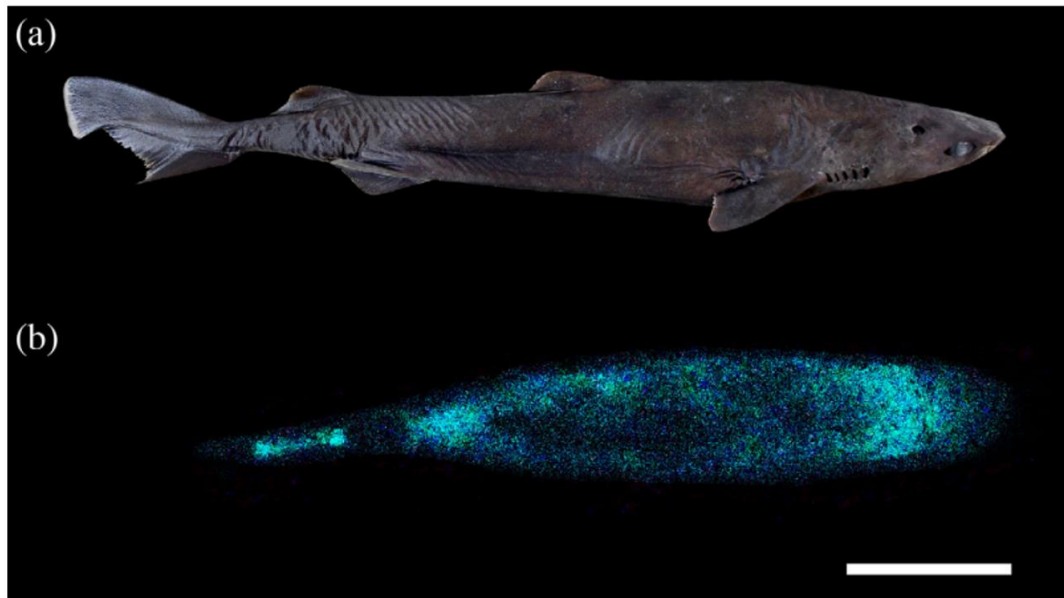
Les Etmopteridae possèdent plusieurs zones lumineuses complexes dont les patterns sont propres à chaque espèce (Claes et Mallefet, 2009a). Par exemple, le requin *Etmopterus spinax* possède neuf zones bioluminescentes différentes (**Fig. 9**) (Claes et Mallefet, 2009a, 2009c, 2010). Les photophores sont agrégés au niveau des flancs latéraux, ventral, dorsal, rostral ainsi qu'au niveau de la queue (Claes et Mallefet, 2009a; Duchatelet *et al.*, 2021a). Ces zones assurent chacune une fonction différente au niveau intra- ou interspécifique (voir section 1.2.4) (Claes et Mallefet, 2009a, 2009c; Duchatelet *et al.*, 2021a). En plus d'*E. spinax*, les autres espèces étudiées, (p. ex. *E. molleri* (Claes et Mallefet, 2015), *E. splendidus* (Claes *et al.*, 2011)) présentent toutes un pattern lumineux bien spécifique (Claes et Mallefet, 2009a).



**Figure 10.** Motifs lumineux des Dalatiidae. *Dalatias licha* avec sa face latérale (haut) et face ventrale (bas), échelle = 10 cm. Les échelles des autres espèces de Dalatiidae correspondent à 5 cm. La flèche jaune indique le collier noir d'*I. brasiliensis*, les flèches rouges indiquent la luminescence de la seconde nageoire dorsale de *D. licha*. Issues de Claes *et al.* (2014), Delroisse *et al.* (2021b), Mallefet *et al.* (2021), Stehmann *et al.* (2016) et D. Perrine pour *E. bispinatus*.

Les Dalatiidae ont une zone lumineuse plus simple que chez les Etmopteridae. Elle consiste en un gradient dorso-ventral de densité de photophore où la densité atteindrait 60 photophores par mm<sup>2</sup> au niveau ventral (Claes et Mallefet, 2009a). Plusieurs espèces de Dalatiidae ont été étudiées, comme *S. aliae* (Claes *et al.*, 2012), *I. brasiliensis* (Delroisse *et al.*, 2021a), *D. licha* (Mallefet *et al.*, 2021) et présentent toutes un pattern lumineux similaire (Mallefet *et al.*, 2021). Leur face ventrale forme une zone photogénique homogène (Claes *et al.*, 2012). *I.*

*brasiliensis* montre une autre caractéristique sur sa face ventrale : il possède une bande noire, ou collier noir, qui n'est pas bioluminescente (**Fig. 10**; Delroisse *et al.*, 2021a). *D. licha* émet également une faible lumière au niveau de ses nageoires dorsales (**Fig. 10**; Mallefet *et al.*, 2021).



**Figure 11.** Motifs lumineux *Zameus squamulosus* (Somniosidae) **a)** vue latérale à la lumière du jour, **b)** vue ventrale lumineuse. Echelle = 10 cm. Issue de Duchatelet *et al.* (2021a).

Dans la famille des Somniosidae, *Z. squamulosus* présente un pattern lumineux similaire à celui des Dalatiidae (**Fig. 11** ; Duchatelet *et al.*, 2021a).

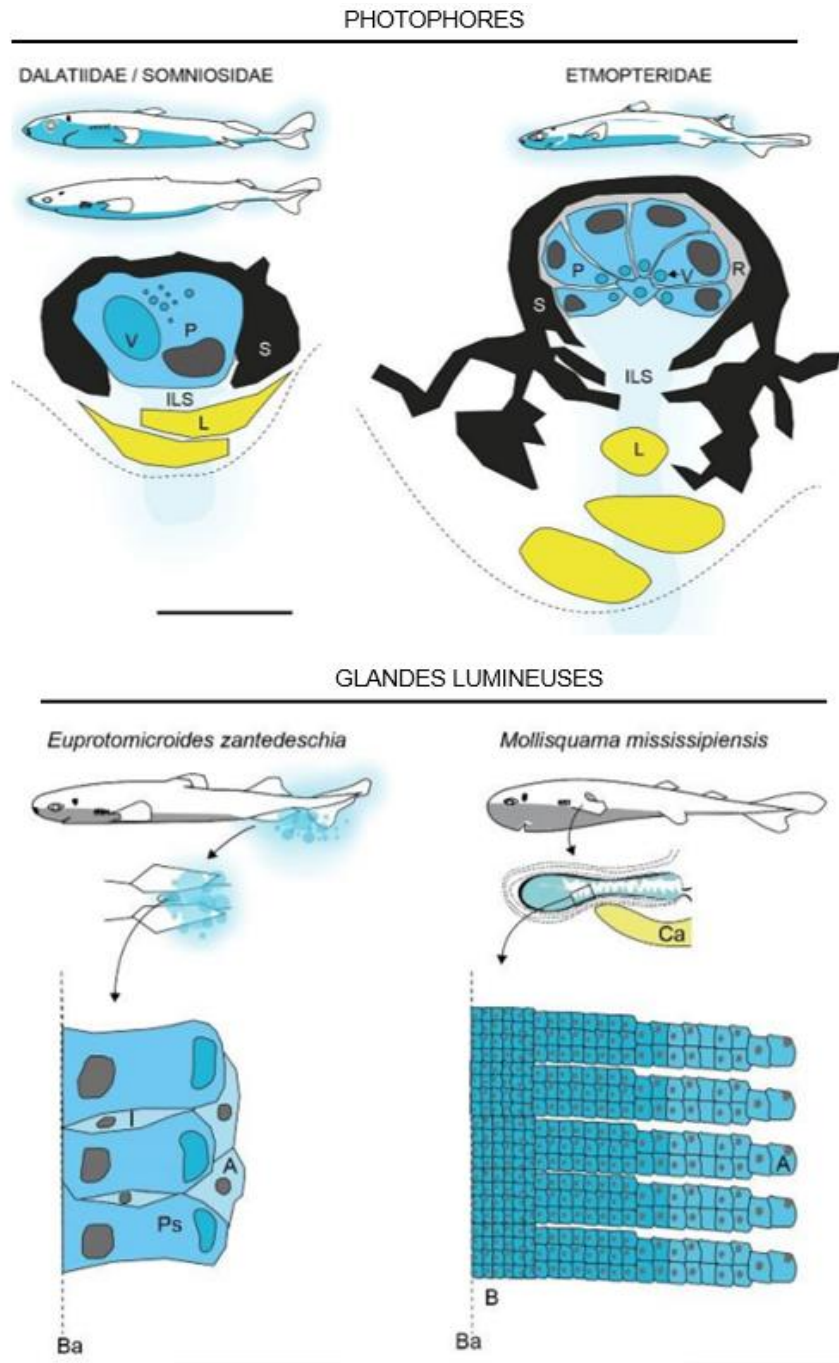
### 1.3.3 Structure des organes lumineux

Les organes lumineux des requins bioluminescents produisent une émission lumineuse intrinsèque ; les études histologiques des trois familles n'ont pas révélé la présence de bactéries symbiotiques luminescentes (Renwart *et al.*, 2014 ; Duchatelet *et al.*, 2019). La production de lumière peut soit se réaliser au sein des cellules luminescentes des photophores soit au sein de glandes sécrétrices qui vont produire de la lumière de manière extracellulaire dans l'environnement (**Fig. 12**). Ce dernier phénomène est retrouvé chez les espèces *Mollisquama* spp. et *Euprotomicroides zantedeschia* de la famille des Dalatiidae (Munk et Jorgensen, 1988 ; Claes *et al.*, 2020).

Les requins luminescents des trois familles possèdent des milliers de photophores localisés au sein de l'épiderme et sont plus petits que ceux précédemment décrits chez les poissons osseux qui mesurent au moins 1 mm de diamètre (Claes et Mallefet, 2008). En effet, ils peuvent

atteindre en moyenne un diamètre de 150  $\mu\text{m}$  chez les Etmopteridae, 100  $\mu\text{m}$  chez les Dalatiidae et 50  $\mu\text{m}$  chez les Somniosidae (Claes et Mallefet, 2009a; Claes *et al.*, 2012; Delroisse *et al.* 2021; Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021).

Au sein des trois familles Etmopteridae, Somniosidae et Dalatiidae, la composition générale des photophores est bien conservée (Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021).

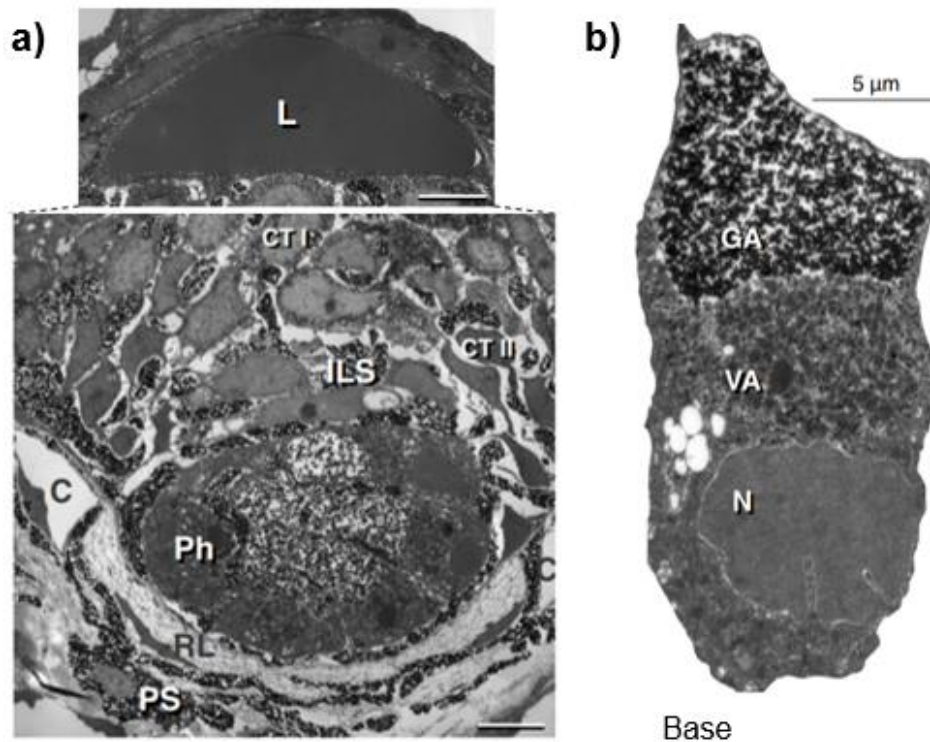


**Figure 12.** Schémas des types d'organes lumineux retrouvés chez les requins. *E. zantedeschia* et *M. mississippiensis* font partie de la famille des Dalatiidae. A : cellules apicales, Ca : cartilage de la

nageoire pectorale, B : cellules basales, Ba : lame basale, ILS : iris-like structure, L : cellules de la lentille, P : photocyte, Ps : photocyte sécréteur, R : couche réticulaire (réflecteur), S : gaine pigmentaire, V : vésicules du photocyte. Les noyaux sont colorés en gris sur les schémas. Les différentes échelles correspondent à 50  $\mu\text{m}$ . Issue de Duchatelet *et al.* (2021b).

Dans la famille des Etmopteriidae, le photophore contient en moyenne 6 à 13 photocytes (Claes et Mallefet, 2009a) qui sont enfermés dans une couche pigmentaire multi-cellulaire en forme de coupe, surmontés d'une structure en forme d'iris (ILS, *iris-like structure*) et d'une ou plusieurs cellules de lentille (**Fig. 12**) (Renwart *et al.*, 2014; Duchatelet *et al.*, 2020a). Cette structure est commune à tous les Etmopteridae étudiés (Renwart *et al.*, 2014; Claes et Mallefet, 2009a, 2015; Claes *et al.*, 2011; Duchatelet *et al.*, 2020a). La structure du photophore a été étudiée jusqu'au niveau ultra-structural chez *Etmopterus spinax* par Renwart *et al.* (2014) et est décrite ci-après (**Fig. 13**). L'ILS est située entre les photocytes et la lentille et est composée de cellules pigmentées ramifiées ressemblant à des mélanophores qui permettent d'obturer le photophore via les mouvements des grains de mélanine (Duchatelet *et al.*, 2020a). L'étude ultra-structurale a également permis de mettre en évidence la présence de deux autres types de cellules constituant l'ILS : les cellules de type I qui serviraient à la stabilisation de la lentille et les cellules de type II dont la fonction n'a pas été élucidée (Renwart *et al.*, 2014). Renwart *et al.* (2014) ont également observé l'organisation intracellulaire des photocytes qui s'avère être régionalisée en trois parties. Dans la partie basale se trouve un noyau sphérique, au milieu des vésicules ovoïdes et au niveau apical se trouvent des inclusions granulaires (**Fig. 13**) (Renwart *et al.*, 2014). Ces inclusions seraient les micro-sources des photophores d'*E. spinax*, nommées glowons et constitueraient donc les composants nécessaires à la photogenèse, c'est-à-dire le substrat lumineux (la luciférine) avec une protéine bioluminescente (luciférase ou photoprotéine) mais le système lumineux des requins lumineux reste encore inconnu (Renwart et Mallefet, 2013 ; Renwart *et al.*, 2015). Les photocytes sont tous orientés vers le centre du photophore, comme le sont donc également leurs zones apicales contenant les glowons, ce qui permettrait d'optimiser la quantité de lumière captée et transmise par la lentille (Renwart *et al.*, 2014,2015). De plus, en observant l'auto-fluorescence du photocyte d'*E. spinax*, c'est la partie apicale qui se révèle être la plus fluorescente, les composants bioluminescents pouvant présenter de l'auto-fluorescence (**Fig. 14.B** ; Claes et Mallefet, 2008 ; Renwart *et al.*, 2014, 2015 ; Duchatelet *et al.*, 2021b). D'autres espèces, *E. lucifer*, *Z. squamulosus* et *E. splendidus*, ont également montré de l'auto-fluorescence au sein de leur photocyte (**Fig. 14** ; Claes et Mallefet, 2009a ; Claes *et al.*, 2011 ; Duchatelet *et al.*, 2021b). Grâce à l'analyse ultra-structurale, en plus de permettre une description plus fine des structures déjà connues, Renwart

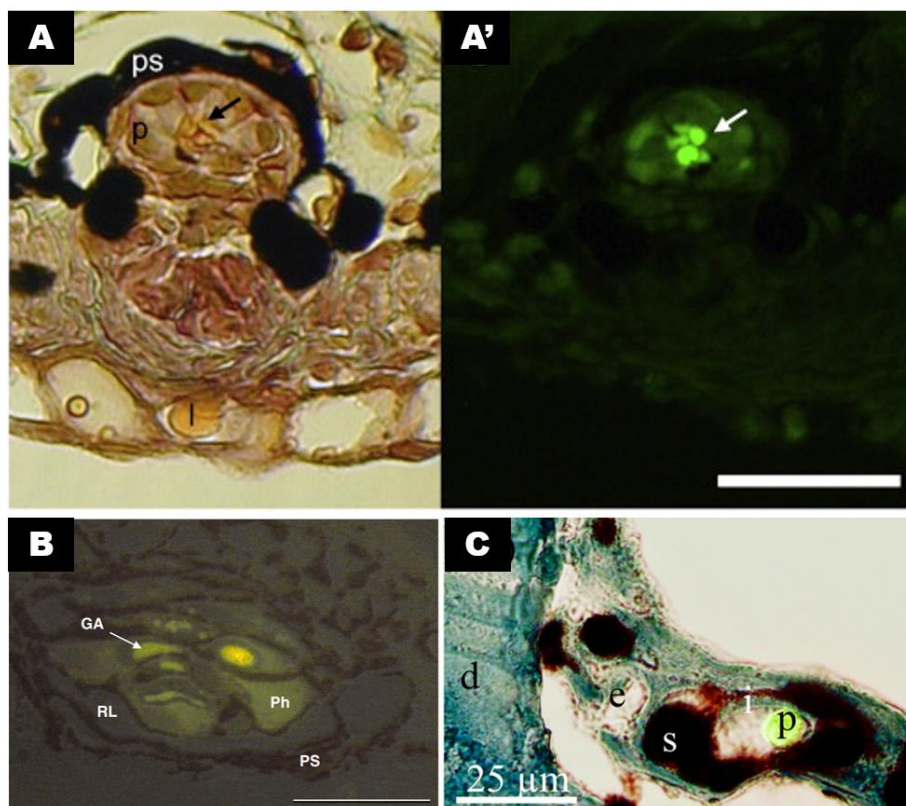
*et al.* (2014) ont découvert une nouvelle couche, la couche réticulaire contenant probablement des cristaux de guanine (**Fig. 13**). Elle est localisée entre les photocytes et la couche pigmentaire et servirait de réflecteur (Renwart *et al.*, 2014). Enfin, aucune innervation n'a été observée au sein de l'organe lumineux (Renwart *et al.*, 2014) mais il possède des nerfs terminaux épidermiques dans les tissus aux alentours du photophore (Claes *et al.*, 2010b ; Duchatelet *et al.*, 2021b).



**Figure 13.** Ultrastructure du photophore d'*E. spinax* observé en microscopie électronique à transmission, **a)** vue globale du photophore en coupe transversale et **b)** la régionalisation du photocyte. C : capillaire sanguin, CTI : cellules de type I, CTII : cellules de type II, GA : zone granulaire, ILS : iris-like structure, L : cellules de lentille, N : noyau, PS : gaine pigmentaire, RL : couche réticulaire, VA : zone vésiculaire. Échelles a) 10 µm et b) 5 µm. Issue de Renwart *et al.* (2014).

Dans la famille des Dalatiidae, le photophore est constitué d'un unique photocyte inclus dans une couche pigmentaire et surmonté d'un groupe de cellules formant la lentille (**Fig. 8**) (Hubbs, 1967 ; Seigel, 1978; Claes et Mallefet, 2009a; Delroisse *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021). *Z. squamulosus* (Somniosidae) hébergent des photophores du même type que ceux des Dalatiidae mais l'espèce ne présente pas de cellules de lentille qui sont potentiellement compensées par son type de squamation en feuille alvéolaire permettant la bonne transmission de la lumière (**Fig. 11** ; Duchatelet *et al.*, 2021a). L'ILS peut être absent, comme chez *Squaliolus laticaudus* (Seigel, 1978), ou moins dense que chez les Etmopteridae (Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet

*et al.*, 2021) et sert également d'obturateur de lumière au sommet du photophore (Hubbs, 1967). Le photocyte contient un large noyau situé en zone apicale et des granules sont présents en zone basale et sont supposés être luminescents (Hubbs, 1967; Claes et Mallefet, 2009a), comme pour *E. spinax* (Claes et Mallefet, 2008; Duchatelet *et al.*, 2020). La structure des photophores reste homogène pour l'ensemble des Dalatiidae (Claes *et al.*, 2012 ; Mallefet *et al.*, 2021; Duchatelet *et al.*, 2021a). Cependant, deux espèces de Dalatiidae montrent des organes lumineux très différents : des glandes sécrétant de la lumière de manière extracellulaire (Munk et Jorgensen, 1988; Claes *et al.*, 2020). *E. zantedeschia* possède une poche abdominale luminescente – la **Fig. 10** montre le fluide lumineux excrété à l'extérieur de la poche abdominale – possédant un épithélium de type pseudostratifié dont un des types cellulaires est caractérisé comme photogénique et correspondant à des cellules cylindriques hautes, composé de granules cytoplasmiques et d'une grande inclusion (Munk et Jorgensen, 1988). *M. mississippiensis* possède des poches pectorales composées d'un épithélium stratifié cubique encapsulé au sein d'une gaine pigmentaire et montrant de l'auto-fluorescence présentant un gradient centrifuge. Il produit un fluide bioluminescent probablement issu d'une sécrétion holocrine (Claes *et al.*, 2020).



**Figure 14.** Autofluorescence des photophores d'*E. splendidus* (A'), d'*E. spinax* (B) et *Z. squamulosus* (C). A) Coupe transversale d'un photophore ventral d'*E. splendidus* montrant le

photophore sans (A) et avec (A') une stimulation sous UV. Les photocytes émettent une autofluorescence verte sous la stimulation UV au niveau des vésicules intracellulaires (flèche). Echelle : 100  $\mu\text{m}$ . B) Superposition de deux photographies de coupes transversales de 600 nm de photophore d'*E. spinax* : une sous lumière blanche montrant les délimitations des photocytes et une seconde sous UV montrant l'autofluorescence présente au sein des photocytes. L'autofluorescence est située au niveau de la zone granulaire. Echelle : 50  $\mu\text{m}$ . C) Vue sous UV d'un photophore de *Z. squamulosus* contenant un photocyte avec une zone autofluorescente. c : tissu conjonctif, d : écaille placoïde, e : épiderme, ga : zone granulaire, i : structure en forme d'iris, l : cellule de la lentille, p : photocyte, ps : gaine pigmentaire, rl : couche réticulaire. Issue de Claes et al. (2011), Renwart et al. (2014) et Duchatelet et al. (2021a).

L'ultrastructure de ces deux dernières familles est à ce jour encore inconnue et sa mise en lumière permettrait de mieux comprendre le processus de bioluminescence ainsi que son évolution à travers les requins. L'étude ultra-structurale des photophores d'*E. spinax* permet de mieux comprendre le processus d'émission lumineuse chez les Etmopteridae en donnant également accès à une étude plus approfondie de son contrôle (voir section 1.2.5. ; Renwart et al., 2014, 2015).

### 1.3.4 Fonctions de la bioluminescence chez les requins

Nous avons vu précédemment que beaucoup d'organismes mésopélagiques utilisent la contre-illumination pour camoufler l'ombre de leur silhouette à de potentiels prédateurs nageant en dessous d'eux. La contre-illumination serait la fonction principale partagée par les trois familles de requins lumineux. Etant donné qu'ils vivent en zone pélagique, où aucune cachette n'est possible, développer un mécanisme tel que la contre-illumination permet un camouflage efficace (Claes et Mallefet, 2009a, 2014), autant dans un but prédatif que défensif (Widder, 1998; Claes et al., 2010; Mallefet et al., 2021). Afin d'optimiser cette fonction, la bioluminescence doit être correctement contrôlée au niveau de l'angle de distribution, de l'intensité et du spectre d'émission lumineuse pour correspondre à la faible lumière résiduelle provenant de la surface des océans (Claes et Mallefet, 2009b; Claes et al., 2010).

Les trois familles de requins n'ont pas les mêmes types de motifs lumineux et ont, de ce fait, également des fonctions distinctes pour leurs différentes zones lumineuses.

La contre-illumination serait la seule fonction assurée par les photophores ventraux des Dalatiidae (Claes et al., 2014). *Zameus squamulosus*, présentant le même pattern lumineux que

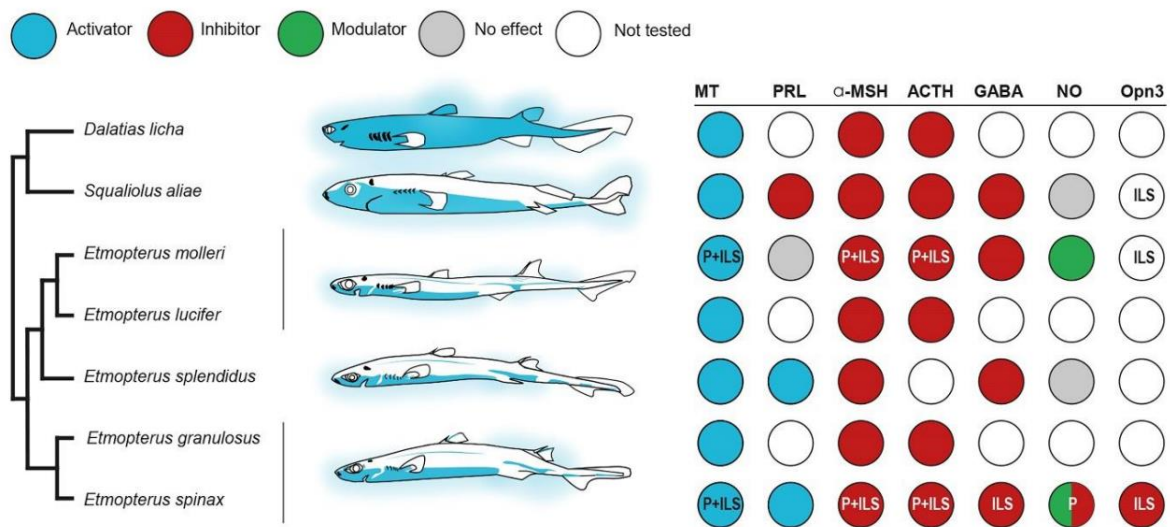
les Dalatiidae, pourrait également utiliser sa bioluminescence pour la contre-illumination (Duchatelet *et al.*, 2021a). En effet, *Z. squamulosus* et les Dalatiidae possèdent tous deux une densité de photophores ventraux suivant un gradient de densité dorso-ventral relativement homogène et qui pourrait servir de camouflage (Duchatelet *et al.*, 2021a; Mallefet *et al.*, 2021). Notons, cependant, qu'il est supposé pour les espèces *D. licha*, n'ayant à priori pas de prédateur, et *I. brasiliensis*, présentant un collier noir (**Fig. 10.b**), qu'une utilisation de la contre-illumination se ferait dans un but de prédation (Widder, 1998; Mallefet *et al.*, 2021).

La disposition des zones lumineuses est plus complexe chez les Etmopteridae comme le montraient les neuf zones lumineuses morphologiquement différentes chez *E. spinax* (**Fig. 9**) (Claes *et al.*, 2014; Mallefet *et al.*, 2021). La zone ventrale servirait à la contre-illumination pour se camoufler des prédateurs. Elle représente une large zone lumineuse homogène qui correspond bien à la lumière ambiante des océans (Claes et Mallefet, 2009a). Cette fonction a été testée expérimentalement sur *E. spinax* par Claes *et al.* (2010) qui concluent que l'intensité son émission lumineuse reste constante dans le temps et qu'*E. spinax* performerait ainsi une migration verticale quotidienne dans la colonne d'eau pour rester dans un isolume de longueur d'onde correspondant à son émission lumineuse. Les motifs lumineux des flancs, de la queue, de la nageoire pectorale et de la zone dorsale semblent être spécifiques à chaque espèce et permettraient donc de la reconnaissance et communication intraspécifique, s'avérant utile pour les rassemblements en banc, la chasse et la reproduction (Reif, 1985; Claes et Mallefet, 2009a; Claes et Mallefet, 2014; Claes *et al.*, 2015; Duchatelet *et al.*, 2021a). Par exemple, la bioluminescence peut permettre aux mâles de reconnaître les femelles, les zones pelviennes de chaque sexe étant lumineuses et les cloaque et nageoire pectorale de la femelle présentant une intensité lumineuse plus importante (Claes et Mallefet, 2009c; 2010). Une fonction d'aposématisme a également été proposée pour les zones lumineuses associées aux épines dorsales d'*E. spinax* (Duchatelet *et al.*, 2019a). Mise à part la fonction d'aposématisme qui ne serait pas présente chez *E. lucifer* et *E. granulatus* (Mallefet *et al.*, 2021), plusieurs espèces de requins-lanternes utiliseraient la bioluminescence pour ces mêmes types de fonctions (Claes et Mallefet, 2009a, 2009c, 2015; Claes *et al.*, 2011; Duchatelet *et al.*, 2021a).

### 1.3.5 Contrôle de la bioluminescence chez les requins

Le contrôle des structures photogéniques a été beaucoup étudié à travers les taxons et les requins lumineux sont les seuls à contrôler leur luminescence par voie hormonale, les autres organismes le faisant par voie mécanique ou nerveuse (Claes et Mallefet, 2009b; Haddock *et al.*, 2010).

Claes et Mallefet (2009b) ont montré pour la première fois une preuve d'un contrôle hormonal chez *E. spinax* impliquant les hormones mélatonine (MT), prolactine (PRL) et l'hormone stimulant les  $\alpha$ -mélanocytes ( $\alpha$ -MSH). *E. spinax* est utilisé comme espèce modèle dans de nombreuses études et son contrôle de la bioluminescence est aujourd'hui bien étudié (Renwart *et al.*, 2015; Duchatelet *et al.*, 2019). Des études menées sur d'autres espèces d'Etmopteridae et de Dalatiidae (Claes *et al.*, 2011a, 2012; Claes et Mallefet, 2015; Mallefet *et al.*, 2021) ont montré qu'elles utilisaient les mêmes hormones. L'hormone adrénocorticotrope (ACTH) a également récemment été découverte comme régulant l'émission lumineuse des deux familles (Duchatelet *et al.*, 2020b; Mallefet *et al.*, 2021).



**Figure 15.** Contrôle hormonal de l'émission lumineuse étudié expérimentalement chez plusieurs espèces de Dalatiidae et Etmopteridae. P : photocyte, ILS : iris-like structure. Issue de Duchatelet *et al.* (2021b).

Ainsi, les deux familles, Etmopteridae et Dalatiidae, présentent un contrôle de l'émission lumineuse assez homogène soutenant l'hypothèse qu'il y aurait une conservation évolutive du contrôle de la bioluminescence entre les Etmopteridae et les Dalatiidae (**Fig. 15**). Généralement, les deux familles voient leur émission lumineuse stimulée par la MT et inhibée par l' $\alpha$ -MSH et par l'ACTH qui sont toutes deux des hormones mélanocortines (Duchatelet *et al.*, 2020b; Mallefet *et al.*, 2021). La PRL a un effet inhibiteur sur l'émission lumineuse des Dalatiidae et stimulateur chez les Etmopteridae (Claes *et al.*, 2012; Mallefet *et al.*, 2021). Pour la famille des Somniosidae, aucune étude pharmacologique n'a été menée jusqu'à présent mais leurs photophores, présentant une structure semblable à celui des Dalatiidae, sont supposés suivre un contrôle similaire (Duchatelet *et al.*, 2021b).

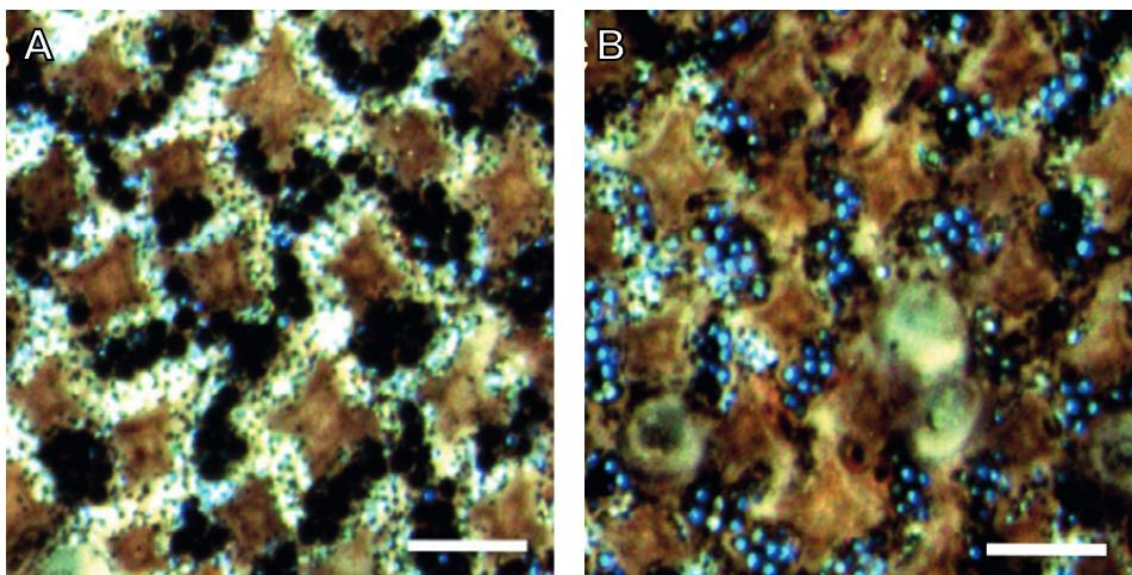
La localisation des récepteurs aux hormones MT (MTNR) et  $\alpha$ -MSH/ACTH (MCR) qui sont associés à des protéines G (GPCR) a été réalisée chez *E. molleri* et *E. spinax* par immunohistofluorescence et permet de mieux comprendre les voies moléculaires impliquées dans le contrôle (Duchatelet *et al.*, 2020a). Les récepteurs à MT sont localisés au niveau de la membrane des cellules de l'ILS et des cellules de la lentille. Les récepteurs à  $\alpha$ -MSH/ACTH ont été détectés au niveau de la partie inférieure des cellules constituant l'ILS et au niveau de la membrane cellulaire des photocytes (Duchatelet *et al.*, 2020a). Pour la prolactine, aucun récepteur n'a été détecté. Les séquences ARNm du récepteur prolactine sont absents du transcriptome de référence d'*E. spinax* (Delroisse *et al.*, 2018; Duchatelet *et al.*, 2020a). L'implication de la PRL dans la réaction de bioluminescence reste ainsi plus compliquée à élucider.

L'ultrastructure déchiffrée d'*E. spinax* permet de mieux comprendre l'implication des hormones au niveau intracellulaire (Renwart *et al.*, 2014) en observant les changements morphologiques se produisant au sein du photophore pendant une stimulation hormonale. Ils ont montré que la prolactine et la mélatonine semblaient agir de manière complémentaire dans la bioluminescence d'*E. spinax* en engendrant des modifications morphologiques au sein des photocytes et également au sein des cellules pigmentées de l'ILS (**Fig. 15**; Renwart *et al.*, 2015).

Au niveau de l'ILS, une stimulation hormonale de la photogenèse engendre une rétraction des cellules pigmentées des projections cytoplasmiques des mélanophores, ce qui va augmenter l'ouverture de l'ILS et ainsi augmenter l'émission lumineuse en permettant à plus de lumière d'atteindre la lentille (Renwart *et al.*, 2015). Ce mécanisme de régulation de l'ILS est régi par des voies de transduction interconnectées impliquant de nombreux facteurs. Premièrement, les GPCR de la MT, l' $\alpha$ -MSH, et l'ACTH régulent l'ouverture de l'ILS via le moteur cellulaire kinésine (Duchatelet *et al.*, 2020b, 2021b). L'émission lumineuse est inhibée par l' $\alpha$ -MSH et l'ACTH qui, se liant à leur récepteur GPCR, vont libérer une protéine Gs qui va stimuler l'activité de l'adénylate cyclase qui, jouant sur la concentration cellulaire en adénosine monophosphate cyclique (AMPc), engendre une augmentation de la concentration cellulaire en AMPc, activant ensuite la protéine kinase A dépendante de la concentration en AMPc. Cela va provoquer l'activation de la kinésine, un moteur cellulaire, qui va disperser les pigments (la mélanine) le long des projections pseudopodiales des mélanophores de l'ILS via des microtubules et ainsi occulter l'émission lumineuse (Wasmeier *et al.*, 2008; Duchatelet *et al.*, 2020a, 2020b, 2020c, 2021b). Inversement, l'émission lumineuse est stimulée par la MT qui, captée par son récepteur, provoque la libération de la protéine Gi couplée au récepteur. Cela

inhibe l'activité de l'adénylate cyclase qui va diminuer drastiquement la concentration en AMPc et réguler à la baisse l'activité du moteur cellulaire kinésine provoquant l'agrégation des pigments des mélanophores (Weismeyer *et al.*, 2008; Duchatelet *et al.*, 2020a, 2020b, 2020c, 2021b). L'émission lumineuse sous MT sera également stimulée via une deuxième voie de régulation impliquant la calmoduline et la calcineurine qui va activer le moteur cellulaire dynéine. La dynéine induit l'agrégation des pigments des mélanophores en les transportant de la périphérie des projections cytoplasmiques vers le noyau des mélanophores associés à l'ILS (Duchatelet *et al.*, 2020c).

Chez *S. aliae*, *D. licha*, *E. lucifer*, *E. splendidus* et *E. molleri* s'observe le même mécanisme de mouvement des pigments pour l'ouverture et la fermeture du photophore donc les cellules pigmentées de l'ILS semblent être une cible importante pour contrôler l'émission lumineuse dans chaque famille (Fig. 15, 16; Claes *et al.*, 2011a, 2012; Claes et Mallefet, 2015; Mallefet *et al.*, 2021). Au niveau des photocytes, les changements cytologiques observés à l'échelle ultrastructurale d'*E. spinax* ont montré que la prolactine engendrait la formation de « particules grises » et une augmentation du nombre d'inclusions granulaires (les micro-sources nommées glowons) au sein de la zone granulaire du photocyte tandis que la mélatonine a engendré une agrégation et, ainsi, une augmentation de la surface des glowons (Renwart *et al.*, 2015).



**Figure 16.** Les mouvements des cellules pigmentées de l'ILS des photophores de *S. aliae*. Morceau de peau contenant des photophores A) avant stimulation hormonale (les photophores sont fermés et n'émettent pas de lumière) et B) après traitement à la mélatonine (les photophores sont ouverts et émettent de la lumière). Échelles= 250  $\mu$ m. Issue de Claes *et al.* (2012).

Un second mécanisme de régulation se réaliserait grâce à un photopigment extraoculaire, l'encéphalopsine (Es-Opn3), qui joue également un rôle dans le mouvement des pigments de l'ILS et suggérant donc un lien entre la photoréception et la photoémission des photophores (**Fig. 15**; Duchatelet *et al.*, 2020c). Ce phénomène s'appelle la photoréception extraoculaire et serait utilisé chez une variété de taxa (Duchatelet *et al.*, 2021b). Le suivi du développement des photophores durant l'embryogenèse d'*E. spinax* et *S. aliae* et l'analyse du transcriptome des yeux et de la peau ventrale d'*E. spinax* ont montré que l'Es-Opn3 était exprimée au niveau des cellules de l'ILS (Delroisse *et al.*, 2018; Duchatelet *et al.*, 2019c, 2021b). Le spectre d'absorbance de l'Es-Opn3 est située entre 410 et 490 nm (correspondant à des longueurs d'onde bleues-vertes) et correspond à la lumière produite au sein des photophores d'*E. spinax* produisant une lumière de longueur d'onde maximale de 486 nm (Claes *et al.*, 2014; Duchatelet *et al.*, 2019c), ce qui appuie encore pour un lien entre la photoémission et la photoréception des photophores. Duchatelet *et al.* (2020c) ont montré que l'application d'une lumière bleue ou bleu-verte au niveau des photophores de la peau induisait une modification à la hausse de la concentration cellulaire des mélanophores en inositol triphosphate (IP3), montrant qu'il y a un phénomène de photoréception, cette protéine étant connue pour réguler le mouvement des pigments des chromatophores chez les amphibiens et poissons (Fujii *et al.*, 1991 ; Mullins *et al.*, 1997; Duchatelet *et al.*, 2020c). L'augmentation de la concentration en IP3 induit la libération de Ca<sup>2+</sup> intracellulaire, activant l'activité de la calmoduline suivie de la calcineurine et enfin du moteur cellulaire dynéine ; ce mécanisme est interconnecté avec la stimulation par la MT vue ci-dessus, provoquant également la rétraction des cellules pigmentées en agrégeant les pigments au niveau du noyau des mélanophores de l'ILS (Duchatelet *et al.*, 2020c).

Enfin, des implications nerveuses ont également lieu au sein du contrôle de l'émission lumineuse (**Fig. 15**). Chez *E. spinax*, il a été montré que les neurotransmetteurs classiques ne permettent pas de stimuler la luminescence mais que les neurotransmetteurs acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) et l'oxyde nitrique (NO) peuvent moduler son émission lumineuse (Claes et Mallefet, 2009b ; Claes *et al.*, 2010b, 2011b; Duchatelet *et al.*, 2020a). L'analyse ultrastructurale d'*E. spinax* (Renwart *et al.*, 2014, 2015) ne montre pas d'innervation nerveuse à l'intérieur même des photophores mais des nerfs présents aux alentours du photophore seraient donc impliqués (Claes *et al.*, 2010b; Duchatelet *et al.*, 2020a). D'autres Etmopteridae comme *E. molleri*, *E. molleri* et le Dalatiidae *S. aliae* utilisent également des neurotransmetteurs dans la modulation de leur émission lumineuse. Le NO n'a pas d'effet chez *S. aliae* et *E.*

*splendidus* mais module l'émission chez *E. molleri* tandis que le GABA a un effet inhibiteur chez ces trois espèces (Claes *et al.*, 2011a, 2012 ; Claes et Mallefet, 2015).

En conclusion, les photophores des requins lumineux sont régulés par deux voies différentes, une première contrôlant la mécanique des pigments des mélanophores associés à l'ILS, la seconde au niveau des photocytes via une réaction biochimique impliquant des substrats luminescents et enzymes encore inconnus, le tout via des hormones (MT,  $\alpha$ -MSH, ACTH, PRL), des neuromodulateurs (GABA, NO) et via photoréception de l'opsine extraoculaire Es-Opn3 (Duchatelet *et al.*, 2020b).

## 1.4 ORGANISME D'INTÉRÊT : DALATIAS LICHA

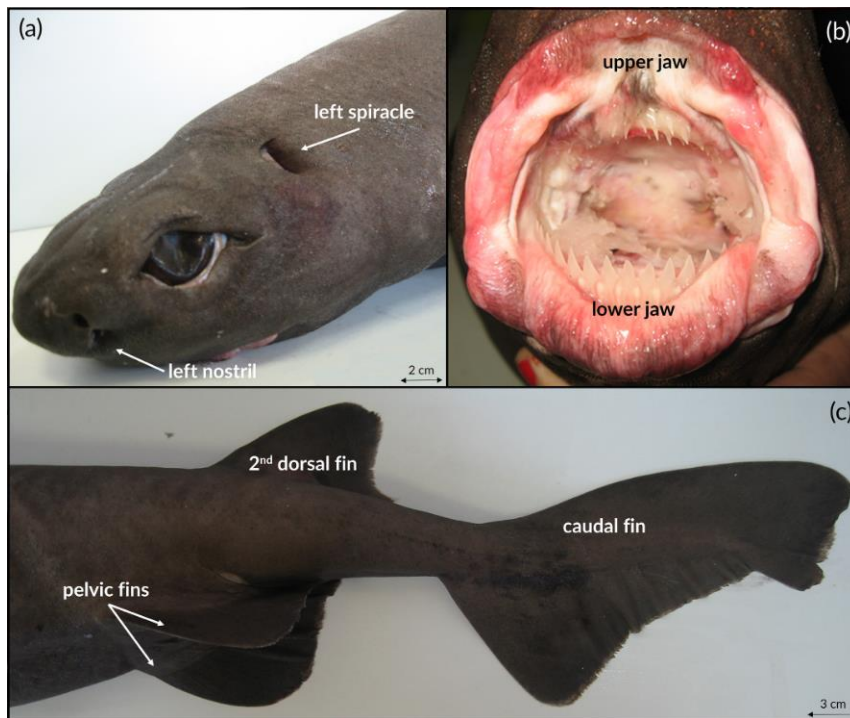
Le requin liche, *Dalatias licha* (Bonnaterre, 1788) est un requin lumineux de la famille des Dalatiidae (Mallefet *et al.*, 2021). Ce prédateur solitaire benthopélagique est classé comme « vulnérable » par la liste rouge de l'IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). Beaucoup de pêche involontaire ont lieu et il est également exploité pour sa chair, son huile de foie riche en squalène, la farine de poisson et le cuir (Fuccini *et al.*, 2018). Globalement, sa population aurait décliné de 30% et la grande majorité de sa distribution actuelle reste encore touchée par la pêche (Fuccini *et al.*, 2018).

### 1.4.1 Distribution et biologie

*D. licha* est distribué mondialement, de la Norvège à la Nouvelle-Zélande, comprenant l'Océan Indien, l'Ouest de l'Océan Pacifique, l'Atlantique Ouest et Est ainsi que la mer Méditerranée (Fuccini *et al.*, 2018). Il se retrouve au niveau des eaux chaudes, tropicales et tempérées (Compagno, 1984). C'est une espèce de requin des eaux profondes, benthique à mésopélagique, s'établissant principalement sous les 200 m de profondeur mais pouvant être trouvée à des profondeurs de 37 à 1800 m (Compagno, 1984).

Le requin liche est solitaire, ne se retrouvant pas en bancs (Compagno, 1984). C'est un requin de taille moyenne, pouvant atteindre jusqu'à 182 cm, les mâles et femelles matures mesurant en moyenne 100 et 120 cm de longueur totale (Fuccini *et al.*, 2018), faisant de lui le plus grand vertébré bioluminescent connu à ce jour (Mallefet *et al.*, 2021). Sur son corps sont observés un museau émoussé et court, des lèvres épaisses et papilleuses, de grands yeux et deux nageoires dorsales sans épines et de taille similaire (**Fig. 17**; Compagno, 1984; Kousteni, 2021). Il n'a pas de nageoire anale et possède une mâchoire puissante et lourde avec de petites dents supérieures

avec des cuspides minces et des grandes dents inférieures à cuspides dressées triangulaires et dentelées (Compagno, 1984).



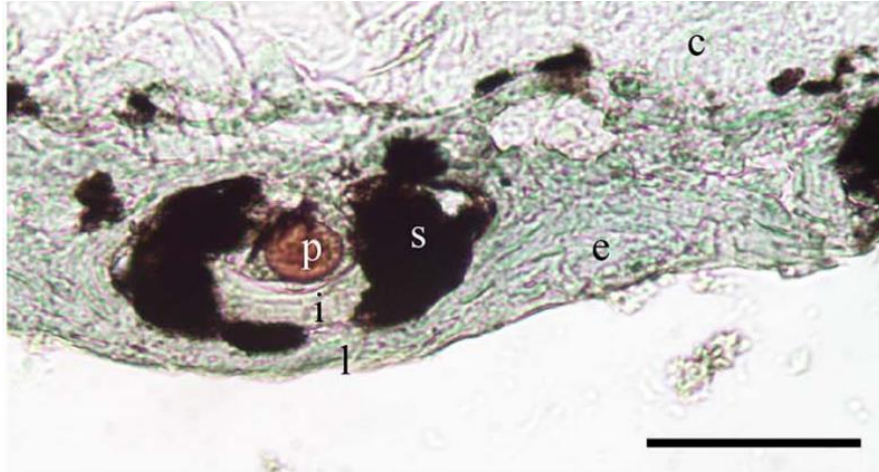
**Figure 17.** Description morphologique d'une femelle mature *Dalatias licha* de 103 cm de longueur totale. (a) La tête avec les grands yeux et les spiracles ; (b) La bouche avec des lèvres épaisses et papilleuses ainsi que la dentition des mâchoires supérieure (petites dents) et inférieure (grandes dents) ; (c) La deuxième nageoire dorsale sans épine, les nageoires pelviennes et la nageoire caudale ont un lobe supérieur étendu. Issue de Kousteni (2021).

Son mode de reproduction est vivipare et la femelle peut porter de 3 à 16 embryons (Compagno, 1984; Kousteni, 2021). Son régime alimentaire est très varié, se nourrissant principalement de poissons osseux d'eau profonde, de raies, de requins, de crustacés ou de céphalopodes (Mattalanus, 1982; Compagno, 1984). Navarro *et al.* (2014) ont évalué son régime alimentaire et sa position trophique et ont montré qu'ils se nourrissent de petits élamobranthes tels que *Etmopterus spinax* et *Galeus melastomus*, montrant ainsi leur haute position trophique dans la chaîne alimentaire. Les requins lanternes (Etmopteridae) tel que *E. spinax* ont une vitesse de déplacement nettement supérieure à celle de *D. licha* qui a la vitesse de déplacement la plus lente des requins étudiés, questionnant sur ces techniques de chasse pour pouvoir atteindre de telles proies (Compagno, 1984 ; Pinte *et al.*, 2020).

### 1.4.2 Bioluminescence

Son statut bioluminescent a été récemment décrit par Mallefet *et al.* (2021). *D. licha* émet une faible lueur bleue depuis les zones latérales et dorsales et au niveau des deux nageoires dorsales via des photophores. Les photophores de *D. licha* sont disposés entre les écailles placoides agencées en forme de feuilles simples (*simple leaf-shaped*) sur le rostre et en forme de pavé (*pavement-like*) sur le reste du corps (**Fig. 8**). Les motifs lumineux sont homogènes et ne possèdent pas de pattern très spécifique comme ce qui est retrouvé chez les Etmopteridae (Fig. 10 ; Mallefet *et al.*, 2021). Les photophores possèdent une structure interne similaire à celle observée chez les autres Dalatiidae mais leur diamètre est plus large, d'environ 90  $\mu\text{m}$  contre 50 et 56  $\mu\text{m}$  pour les espèces *S. aliae* et *I. brasiliensis* (Claes *et al.*, 2012 ; Delroisse *et al.* 2021a, Mallefet *et al.*, 2021). Ils contiennent un photocyte unique, entourée d'une gaine pigmentaire et surmontée de quelques cellules de lentille et d'une structure en forme d'iris (**Fig. 18**). Ils sont disposés sur le corps suivant un gradient de densité dorso-ventral et Mallefet *et al.* (2021) n'ont pas trouvé de différence dans le diamètre des photophores en fonction des zones du corps ventrales, pecto-ventrales et infra-caudales étudiées.

Comme d'autres organismes possédant des photophores ventraux, *D. licha* produirait de la lumière ventralement pour la contre-illumination (Mallefet *et al.*, 2021). Ce requin ne posséderait pas ou très peu de prédateur et ce mécanisme ne servirait donc pas à une fonction de défense comme retrouvée chez d'autres organismes tels que les requins Etmopteridae, les poissons osseux, les céphalopodes ou les crustacés (Haddock *et al.*, 2010; Claes *et al.*, 2014). Mallefet *et al.* (2021) suggèrent plutôt que le camouflage par contre-illumination serait utilisé pour la prédation, soit pour éclairer les fonds marins à la recherche de proies soit pour s'approcher discrètement et attaquer furtivement la proie une fois suffisamment à proximité de celle-ci (Mallefet *et al.* 2021). En effet, ses proies tels que les Etmopteridae sont beaucoup plus rapides, ce qui pourrait expliquer comment ce requin liche particulièrement lent se nourrit de telles proies (Pinte *et al.*, 2020 ; Mallefet *et al.*, 2021). Au niveau de la communication intraspécifique, les zones pelviennes de *D. licha* présentent un dimorphisme sexuel qui pourrait potentiellement jouer un rôle dans l'aide à la reproduction (Mallefet *et al.*, 2021). La bioluminescence présente sur les deux nageoires dorsales n'avait encore jamais été observée chez les autres requins lumineux mais sa potentielle fonction reste pour l'instant non élucidée (Mallefet *et al.*, 2021).



**Figure 18.** Coupe au cryostat d'un photophore ventral de *Dalatias licha*. *c* : tissu conjonctif, *e* : épiderme, *l* : cellules de la lentille, *i* : structure en forme d'iris, *p* : photocyte, *s* : gaine pigmentaire. Échelle : 100  $\mu$ m. Issue de Mallefet et al. (2021).

## 1.5 OBJECTIFS

Ce mémoire porte sur l'étude des photophores de l'espèce *Dalatias licha*, le plus grand vertébré bioluminescent connu à ce jour. Nous avons vu que les photophores des Dalatiidae étaient composés d'un unique photocyte, la cellule luminescente, d'une lentille et d'une couche pigmentaire (Mallefet et al., 2021). Nous savons également que la mélanocortine ( $\alpha$ -MSH), la mélatonine (MT) et l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) sont des hormones impliquées dans le contrôle de la bioluminescence de *D. licha* ainsi que de l'ensemble des familles Dalatiidae et Etmopteridae (Mallefet et al., 2021). Ces hormones agissent au niveau du photocyte et au niveau des mélanophores de l'ILS.

Parallèlement aux études de l'ultrastructure réalisées sur *Etmopterus spinax* (Renwart et al., 2014, 2015), l'objectif de ce mémoire est de décrypter l'organisation ultrastructurale des photophores de *D. licha* et les changements morphologiques s'y produisant sous l'action de la MT et de l' $\alpha$ -MSH. Ceci permettra de mener une étude comparative de l'ultrastructure des photophores entre les familles Dalatiidae et Etmopteridae. Cela permettra aussi d'approfondir la compréhension du processus d'émission lumineuse de *D. licha* et, plus largement, des Dalatiidae. Plus généralement, ces données nouvelles permettront de supporter ou non l'hypothèse selon laquelle la morphologie et le contrôle des photophores sont bien conservés dans l'évolution des Squaliformes (Mallefet et al., 2021).

Un second organisme, *Etmopterus lucifer*, a été étudié afin d'apporter de plus amples preuves de la conservation de la structure des photophores entre Etmopteridae ainsi qu'avec ceux des Dalatiidae. L'investigation de ces photophores est uniquement réalisée sur des photophores contrôlés sans traitement hormonal afin de servir de contrôle confirmant l'ultrastructure des photophores des Etmopteridae décrite pour *E. spinax* et de le comparer avec l'ultrastructure de *D. licha* décrite dans ce mémoire.

Des coupes à l'ultramicrotome contrastées et observées en microscopie électronique à transmission (TEM) ont été utilisées pour décrire l'ultrastructure des photophores de *Dalatiias licha* sur des photophores sans traitement appliqué. L'analyse des modifications morphologiques est réalisée sur des photophores avec traitement hormonal MT et  $\alpha$ -MSH. L'ultrastructure d'*E. spinax* a révélé la présence de micro-sources, les glowons, dont la morphologie est modifiée en fonction de l'état de luminescence. Les microsources sont les réactifs nécessaires à la photogénèse. Leur analyse à une échelle fine au sein de la cellule photogénique en fonction de traitements hormonaux stimulateur (MT) et inhibiteur ( $\alpha$ -MSH) de l'émission lumineuse permet d'apporter des éléments de compréhension clés à la réaction de bioluminescence (Renwart *et al.*, 2015; Delroisse *et al.*, 2017).

## 2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

---

### 2.1 POPULATIONS ÉTUDIÉES

Le présent mémoire s'intéresse aux espèces de requin lumineux *Dalatiias licha* et *Z. squamulosus*. Les organismes adultes ont été collectés en janvier 2020 entre 443 et 997 m de profondeur via des traits de chalut par le R. V. Tangaroa au niveau de la zone de fond océanique Chatham Rise en Nouvelle-Zélande comme expliqué dans l'étude de Mallefet *et al.* (2021). Un total de 37 individus *D. licha* mesurant entre 40,9 et 138,0 cm de longueur totale (TL) et 307 *E. lucifer* mesurant entre 16.2 et 53.2 cm (TL) ont été collectés. Chaque spécimen a été maintenu dans un aquarium avec de l'eau de mer fraîche et à température froide dans une chambre froide sombre jusqu'au début de l'expérience. Les données de sexe, de taille et de poids de chaque requin ont été récoltées (Mallefet *et al.*, 2021). Les organismes ont ensuite été euthanasiés via une incision complète de la moelle épinière au niveau des premières vertèbres, comme indiqué par l'European regulation for animal research handling.

Des morceaux de peau de la zone ventrale de *D. licha* ont été disséqués puis rincés et conservés dans une solution saline de requin [292 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 3,2 mmol L<sup>-1</sup> KCl, 5 mmol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>, 0,6 mmol L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>, 1,6 mmol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 300 mmol L<sup>-1</sup> urée, 150 mmol L<sup>-1</sup> N-oxyde de triméthylamine, 10 mmol L<sup>-1</sup> glucose, 6 mmol L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> ; osmolarité totale : 1,080 mOsmol ; pH 7,7 (Bernard *et al.*, 2005)] à 4°C dans l'obscurité avant l'application des traitements pharmacologiques.

## 2.2 TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES

Suivant l'étude de Mallefet *et al.*, (2021), les hormones mélatonine (MT) et mélanocortine ( $\alpha$ -MSH) ont été utilisées pour respectivement provoquer et inhiber l'émission lumineuse des photophores de *D. licha*. Les tissus ont ainsi été étudiés dans trois conditions différentes. La première consiste en un traitement à la mélatonine : le tissu est immergé dans 200  $\mu$ l de MT à concentration 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> jusqu'au pic d'émission lumineuse (après environ 5 min). La seconde condition consiste en un traitement à la mélanocortine : le tissu est immergé dans 100  $\mu$ l de MT 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> suivi d'une injection de 100  $\mu$ l de  $\alpha$ -MSH 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> après le pic d'émission lumineuse (Mallefet *et al.*, 2021). L'hormone  $\alpha$ -MSH va inhiber l'action de la MT et ainsi arrêter la réaction de bioluminescence. Une troisième condition, un tissu contrôle sans traitement hormonal appliqué, a également été étudié. Après traitement, les tissus ont été fixés dans une solution de glutaraldéhyde (3% de glutaraldéhyde, 0,1 M de cacodylate de sodium, 0,27 M de chlorure de sodium ; pH 7,8) durant au moins trois heures. Les morceaux cutanés ont ensuite été rincés puis conservés dans un tampon cacodylate (2 M cacodylate de sodium, 0,31 M chlorure de sodium ; pH 7,8; Renwart *et al.*, 2014; Mallefet *et al.*, 2021).

Les tissus fixés au glutaraldéhyde ont été utilisés pour l'étude de l'ultrastructure en microscopie électronique à transmission (TEM) via des coupes ultra-fines et l'étude de l'histologie classique des photophores en microscopie optique via des coupes semi-fines.

## 2.3 ANALYSE ULTRASTRUCTURALE

### 2.3.1 Décalcification et post-fixation des tissus

Les tissus cutanés ont été baignés pendant 10 jours dans une solution décalcifiante (OsteoRAL, Fast decalcifier for Large Anatomical Specimens, RAL Diagnostics, France) avec agitation constante en chambre froide et renouvellement de la solution tous les 2 jours. Cette étape permet de décalcifier les écailles placoides des morceaux de peau et est essentielle pour faciliter les

coupes histologiques. Les échantillons ont ensuite été post-fixés dans du tétroxyde d'osmium (1% de tétroxyde d'osmium, 0,1 M de cacodylate de sodium, 0,27 M de chlorure de sodium ; pH 7,8) pendant 1 heure. Ils sont ensuite rincés au cacodylate de sodium (3X15 min) puis progressivement déshydratés dans une série d'éthanol à concentration croissante (de l'éthanol 25° pendant 10 min, 50° pendant 10 min, 70° pendant 20 min, 90° pendant 2X15 min et enfin de l'éthanol pur 100° pendant 2X30 min). Des tissus contrôles et sous traitement MT ou  $\alpha$ -MSH ont été utilisés.

### 2.3.2 Enrobage

Les morceaux cutanés déshydratés ont ensuite été enrobés dans une résine Spurr [10 g de résine ERL 4206, 6 g de résine DER 736, 26 g d'anhydride nonénylsuccinique, 0,4 g de diméthylaminoéthanol]. Après une nuit sous agitation continue à température ambiante, la solution de résine a été chauffée à 70°C pendant 24h pour déclencher la polymérisation. Les blocs de résine sont ainsi prêts pour les coupes histologiques semi-fines et ultra-fines.

### 2.3.3 Coupes et contrastage

Des coupes semi-fines de 600 nm ont été obtenues à l'aide d'un ultramicrotome (Leica Ultracut UCT – Leica Microsystems) et placées sur des lames porte-objets (VWR® Microscope Slides). Elles ont ensuite été colorées au bleu de méthylène [bleu de méthylène : eau distillée (1:1)] et sont ainsi prêtes à être examinées au microscope optique. Ces coupes semi-fines permettent réaliser une première analyse histologique et de se situer dans le tissu avant de réaliser les coupes ultra-fines.

Des coupes ultra-fines de 90 à 100 nm ont également été obtenues via l'ultramicrotome et ont ensuite été placées sur des grilles de cuivre. Les coupes ont été contrastées dans de l'acétate d'uranyle [solution d'acétate d'uranyle 0,18 M:éthanol (2:1)] pendant 1 heure et, par la suite, dans du citrate de plomb [nitrate de plomb 0,08 M, citrate de sodium 0,12 M, hydroxyde de sodium 0,16 M] durant 4 à 5 min. Après chacune des deux solutions de contrastage, les coupes ont été rincées dans des gouttes d'eau distillée pendant 15 min. Après séchage à température ambiante, les grilles sont prêtes à être observées au TEM.

### 2.3.4 Analyse des coupes - Statistiques

Les coupes semi-fines ont été observées au microscope optique (Zeiss Axio Scope A1) couplée à une caméra (AxioCam 305 color). Les photographies des coupes semi-fines et l'insertion d'une échelle ont été réalisées via le logiciel ZEN 3.2. Les diamètres des photophores et des

zones des structures présentes en son sein (c-à-d. les photocytes et la zone pigmentaire) ont été mesurées via le logiciel ImageJ. Ces éléments coupés longitudinalement ont été considérés comme des éléments circulaires pour calculer leurs aire et diamètre. La marche à suivre sur ImageJ consiste en plusieurs étapes :

- Insertion d'une ligne, *Straight*, correspondant à la taille de l'échelle de la coupe. Dans l'onglet *Analyse*, cliquer sur *Set scale* pour calibrer les mesures faites sur ImageJ à l'échelle de la coupe.
- Entourer la zone d'intérêt (c-à-d le photophore ou le photocyte) via *Freehand selection*.
- Dans *Analyse*, cliquer sur *Set measurements* et cocher *Area*.
- Ensuite, dans *Analyse*, *Measure* fournit les données d'aires des structures d'intérêt entourées.

L'aire de la zone pigmentaire vaut l'aire du photophore moins celle du photocyte. Sur base des mesures d'aire, la moyenne des diamètres et les erreurs standards correspondantes ont été calculées pour les photophores, photocytes et zones pigmentaires.

Les coupes ultra-fines ont été observées sur un microscope électronique à transmission (TEM) (Zeiss Leo 906E) couplée à une caméra (Jenoptik ProgRes® CFcool) et des photographies des coupes ultra-fines ont été prises via le logiciel ProGres CapturePro 2.10.0.1. Les coupes ultra-fines ont également été analysées via le logiciel ImageJ pour mesurer les diamètres ( $\mu\text{m}$ ), surface ( $\mu\text{m}^2$ ), couverture (%) et densité (nombre/ $\mu\text{m}^2$ ) des inclusions granulaires dans les trois différentes conditions (contrôle, MT, alpha-MSH). La mise à l'échelle de la coupe a été réalisée via la même démarche que pour les semi-fines. La couleur et le type de l'image sont modifiés :

- Regrouper les trois canaux de couleur de la photographie en une image via *Image*, l'option *color* puis *stack to RGB*.
- Changer le type de l'image de 16 bit vers 8 bit via *Image* puis *type 8 bit*.

L'image est ensuite rendue binaire via les onglets :

- *Process* → *binary* → *make binary* qui nous donne une image en noir et blanc.

Puis, les inclusions granulaires sont distinguées les unes des autres via les onglets :

- *Process* → *Binary* → *Watershed*.

Enfin, la zone d'intérêt (c-à-d. la zone granulaire) est entourée via *Freehand selection* puis les différents paramètres sont mesurés via *Analyse* → *analyse particules*.

Les moyennes des différentes mesures réalisées sur les inclusions granulaires des différents photophores observés ont été comparées via un test de Student. Chaque photophore a été considéré comme étant une donnée indépendante bien qu'il faille prendre en compte le fait que les observations sont liées entre elles puisque plusieurs photophores différents provenaient parfois du même individu, ainsi un biais de pseudoréplication peut avoir eu lieu dans les tests statistiques réalisés ici. Les trois conditions (contrôle, MT, MSH) étaient les variables explicatives des variables couverture, surface et densité. L'homogénéité des variances a été testée via les tests de Bartlett et de Levene. Les résultats ont été représentés via des diagrammes en bandes montrant la moyenne, la significativité ou non entre les différences de moyenne et la variabilité des données via des barres d'erreur. Ces analyses ont été réalisées sur RStudio. Les différentes mesures étaient considérées comme significatives lorsque la p-valeur valait moins de 0,05.

## 3 RÉSULTATS

---

Les coupes histologiques semi-fines et ultra-fines ont permis de déterminer la structure générale et l'organisation intracellulaire des photophores de *D. licha*. Les coupes semi-fines observées au microscope optique permettent de donner un premier aperçu de la morphologie des photophores, mettant à disposition un schéma clair à analyser en vis-à-vis des coupes ultra-fines pour identifier les structures intracellulaires observées à une échelle ultrastructurale via un microscope électronique à transmission (TEM). Les changements morphologiques à une échelle semi-fine et ultrastructurale via l'action des hormones mélatonine et mélanocortine ont également pu être décrits.

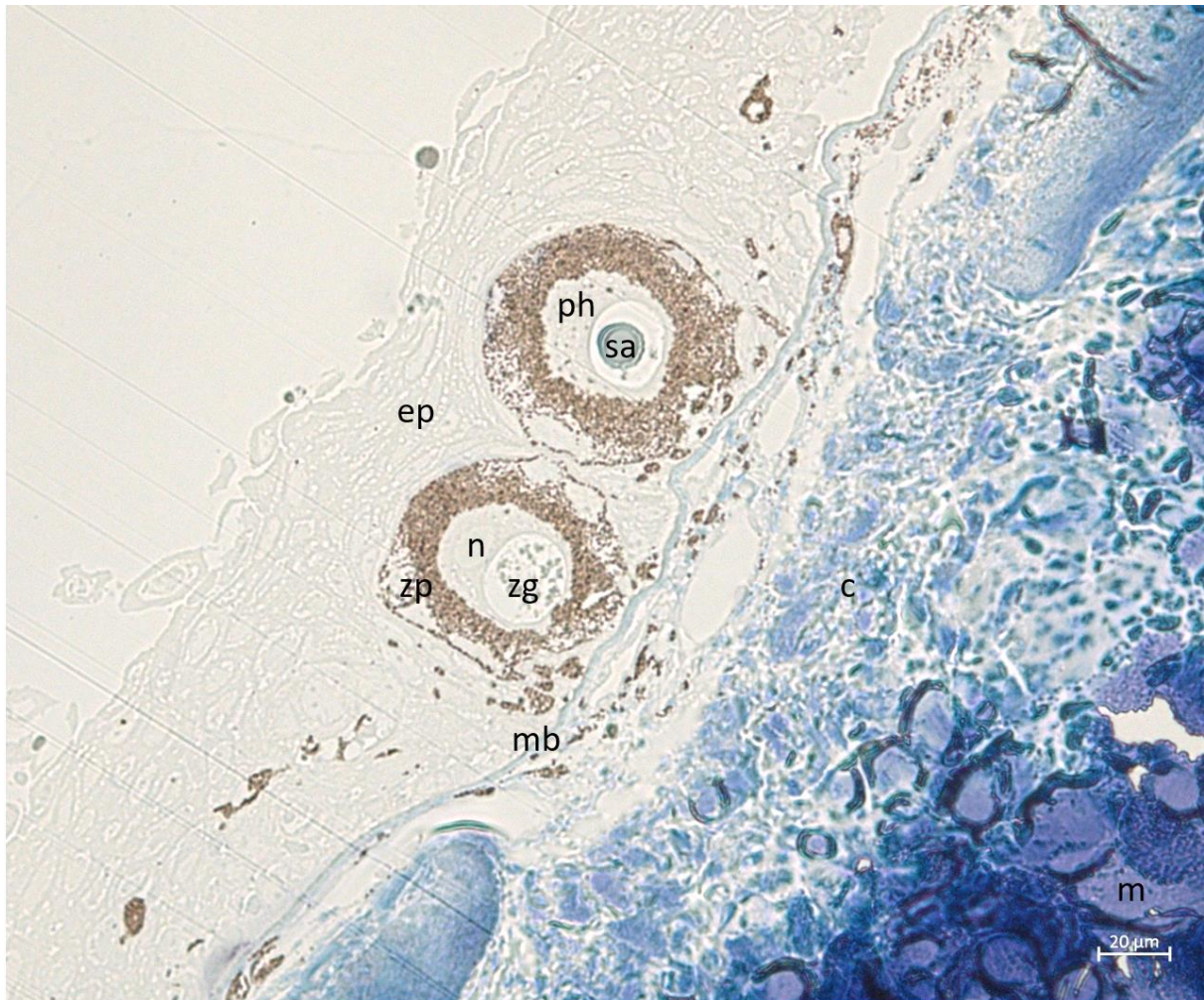
### 3.1 ORGANISATION ULTRASTRUCTURALE DES ORGANES LUMINEUX

La structure générale des photophores est décrite en utilisant des photophores contrôles, c'est-à-dire des photophores n'ayant subi aucun traitement hormonal et supposés à l'état « fermé », n'étant ainsi pas dans un stade d'émission lumineuse. 44 photophores photographiés en microscopie optique et 11 photophores au TEM ont été utilisés.

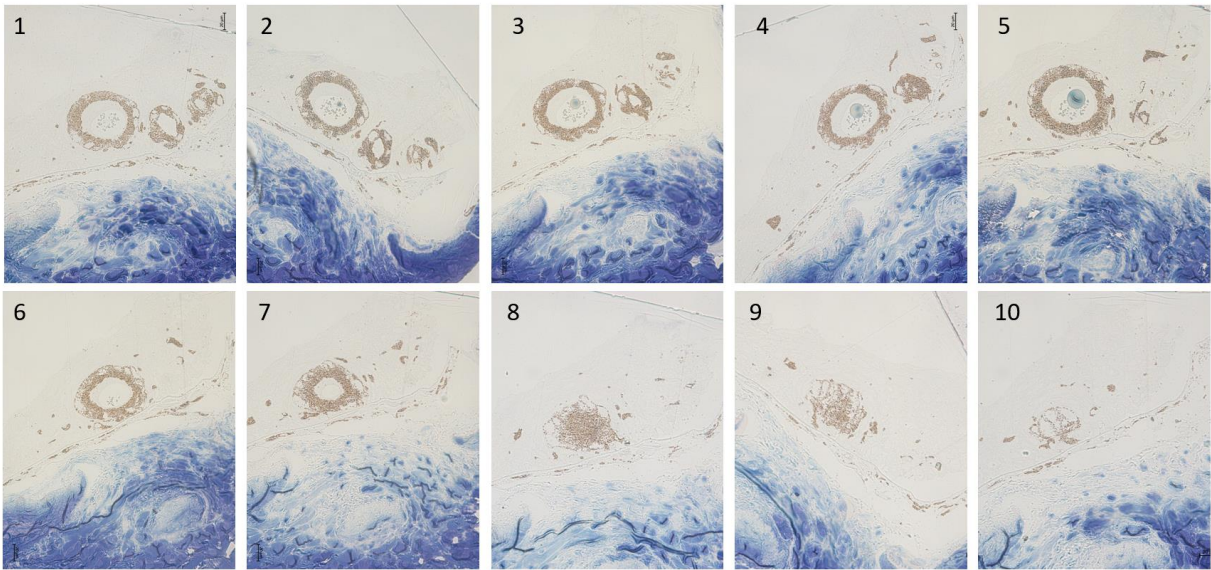
#### 3.1.1 Structure du photophore

Les photophores présentent une forme sphérique et sont situés au sein de l'épiderme pavimenteux stratifié à proximité de la membrane basale (**Fig. 19**). Ils sont composés d'une unique cellule photogénique, le photocyte, régionalisée et enveloppée d'une couche (ou gaine) pigmentaire sphérique. Aucune cellule semblant correspondre à des cellules de lentilles (**Fig.**

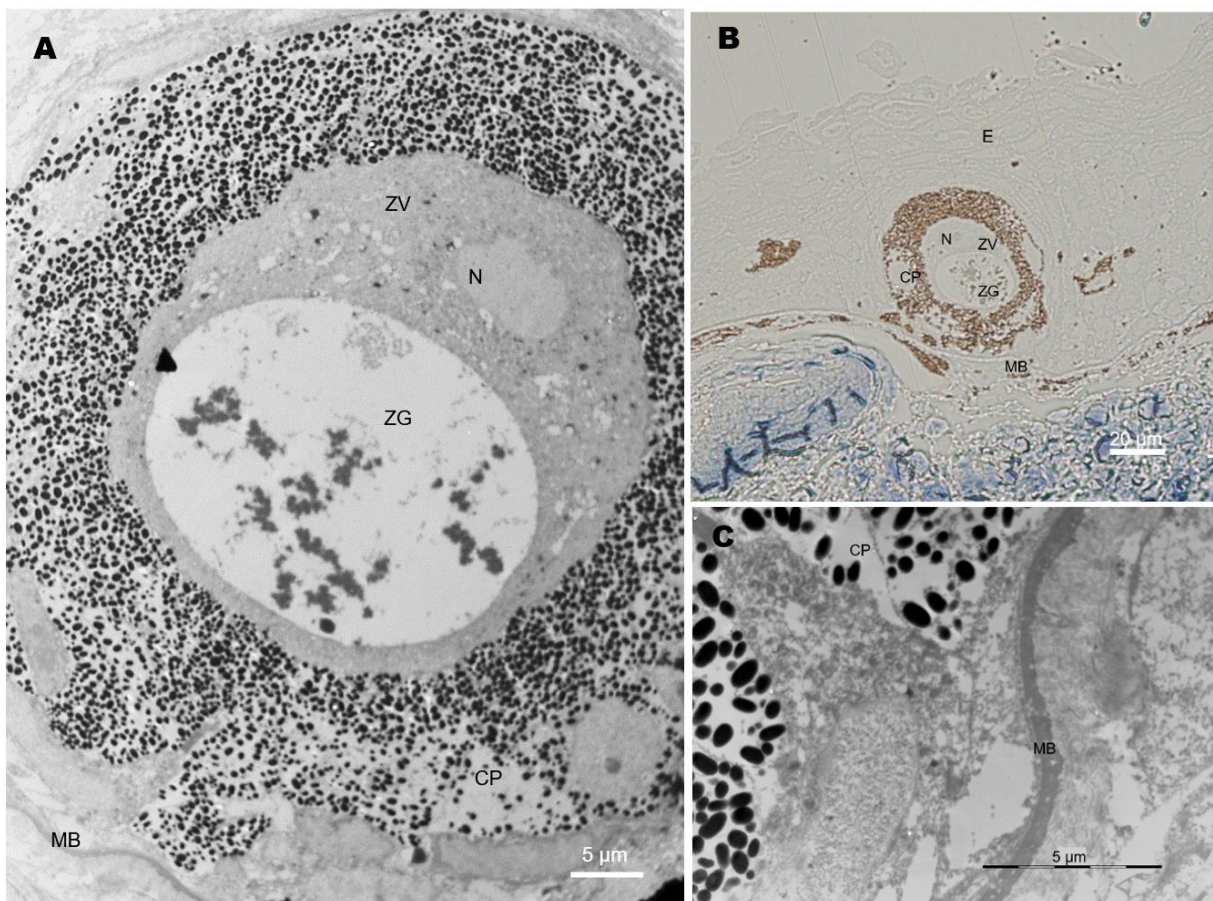
27) ou de structure en forme d'iris (ILS, *iris-like structure*) n'a été observée au microscope optique ou électronique à transmission sur les photophores contrôles observés. Des coupes en série du début à la fin du photophore ont permis de comprendre la structure tridimensionnelle et de situer le centre de l'organe lumineux (**Fig. 20**). La surface et le diamètre des photophores ont été mesurés sur les coupes semi-fines longitudinales passant par le milieu du photophore et valent en moyenne  $2962,76 \pm 125,71 \mu\text{m}^2$  et  $60,86 \pm 1,26 \mu\text{m}$  (N = 44) respectivement.



**Figure 19.** Coupe transversale semi-fine d'un morceau cutané coupant longitudinalement des photophores de *Dalatias licha* sans traitement hormonal (wild type) ; c : tissu conjonctif, ep : épiderme, m : muscle, mb : membrane basale, n : noyau, ph : photocyte, sa : sécrétion acidophile, zg : zone granulaire, zp : zone pigmentaire.



**Figure 20.** Coupes en série (600 nm) des photophores contrôle. Ordre chronologique des coupes numérotés de 1 à 10, le numéro 10 correspondant à la fin du photophore.

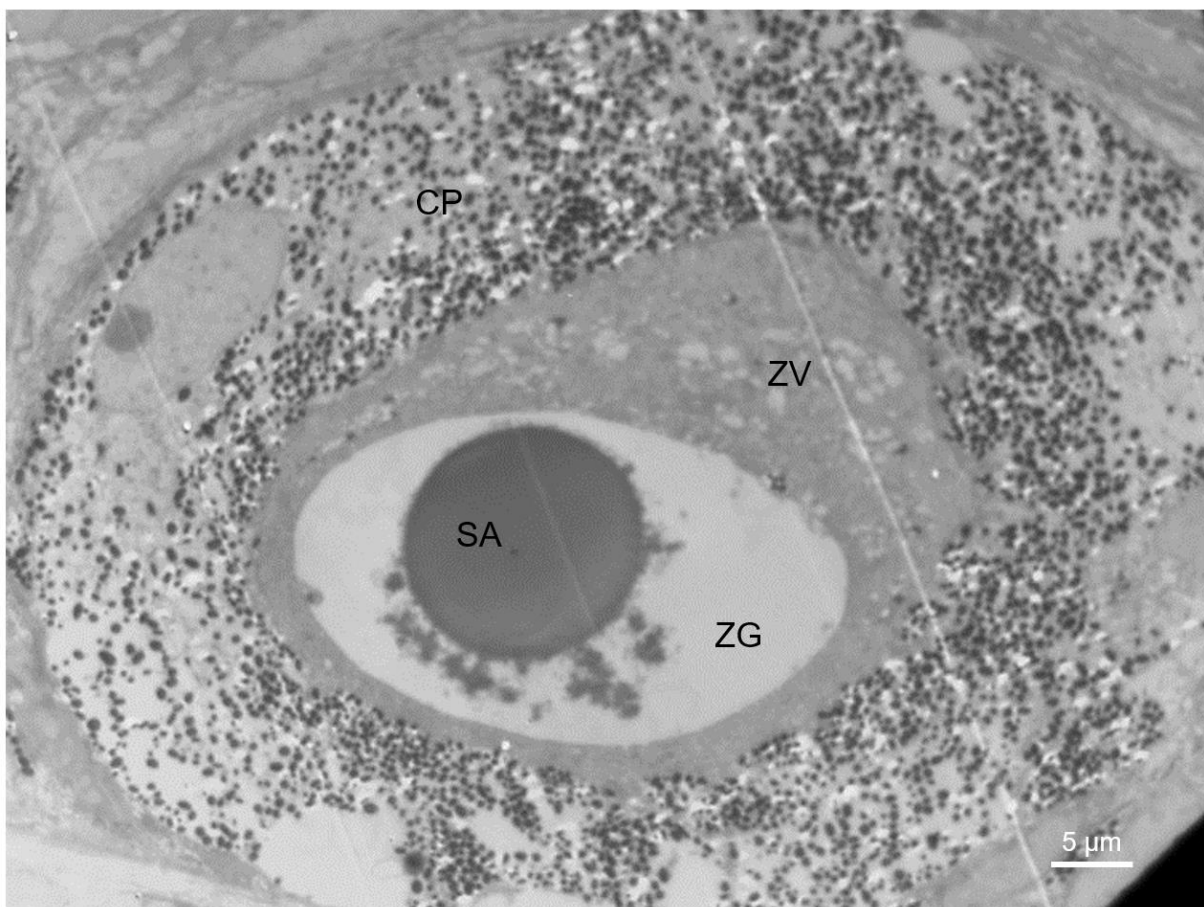


**Figure 21.** Coupe ultra-fine et semi-fine mises en vis-à-vis d'un photophore contrôle fermé. La coupe longitudinale n'est pas passée à travers la sécrétion acidophile. A) Photomicrographie grossissement x600. B) Coupe semi-fine (600nm) colorée au bleu de méthylène. C) Grossissement x2700 au niveau de

la membrane basale. CP : couche pigmentaire, E : épiderme, MB : membrane basale, N : noyau, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.

### 3.1.2 Photocyte

La cellule photogénique, ou photocyte, est contenue au sein de la couche pigmentaire et constitue le centre du photophore. Le photocyte est régionalisé en deux zones possédant une orientation particulière : la partie basale contient la zone granulaire et la partie apicale contient la zone vésiculaire où est positionné le noyau (**Fig. 19 et 21**). Le diamètre des photocytes mesure en moyenne  $36,45 \pm 1,05 \mu\text{m}$  (N = 44).

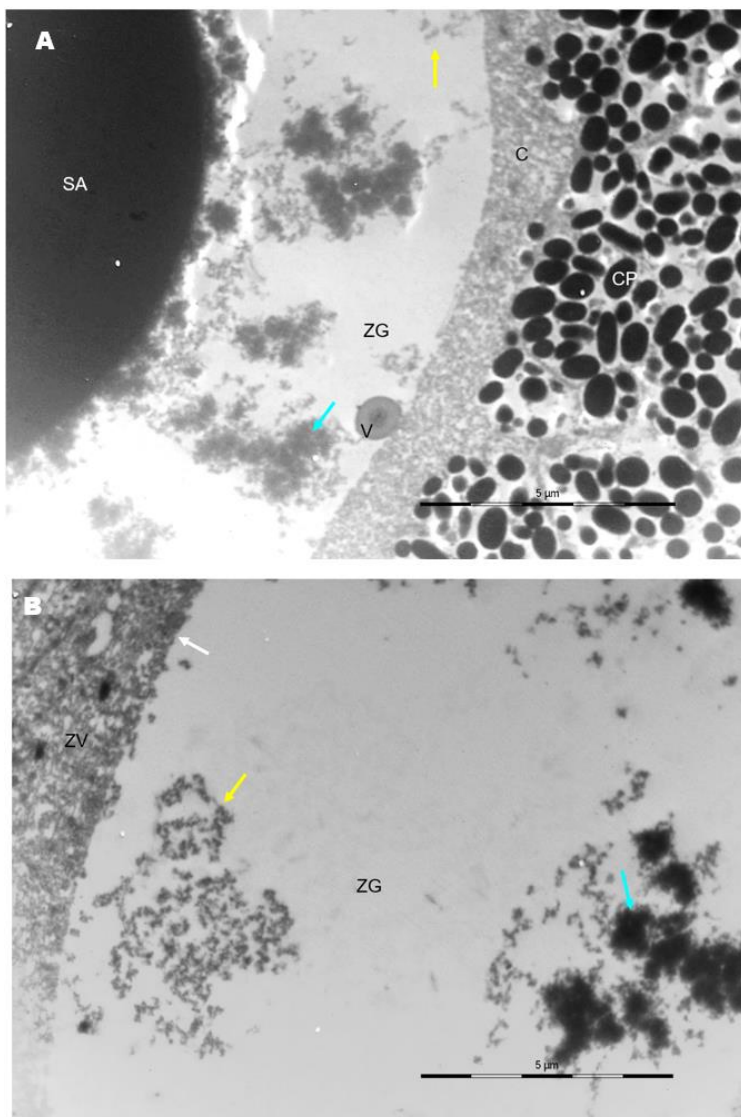


**Figure 22.** Photomicrographie en grossissement x600 d'une coupe longitudinale d'un photophore contrôle. CP : couche pigmentaire, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire

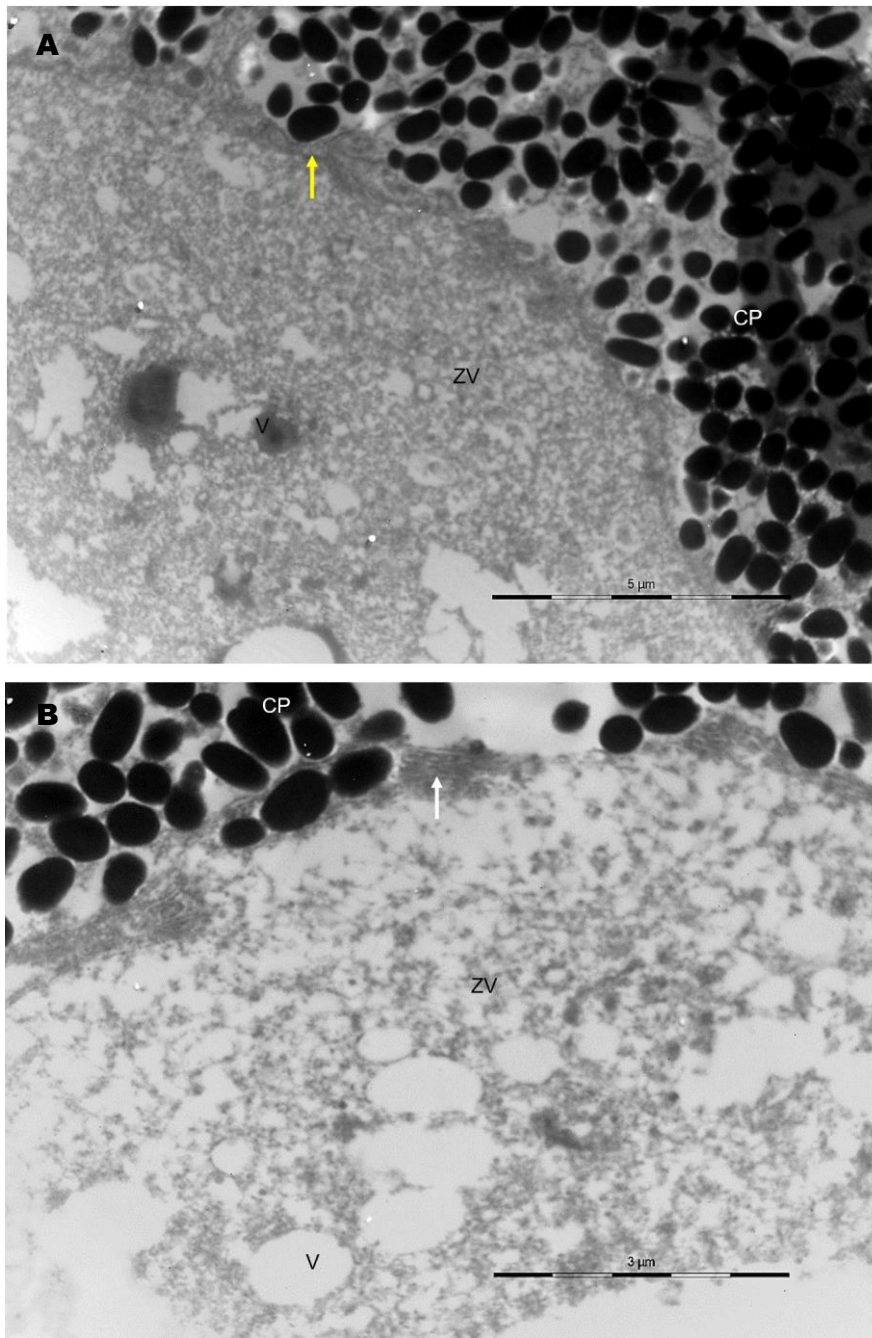
#### *Zone granulaire*

A la base du photocyte une lumière blanche contenant plusieurs inclusions granulaires dispersées aléatoirement se distingue du reste du photocyte, cette zone est déterminée de zone granulaire. Bien que nettement distincte, aucune membrane n'est observée entre la zone

granulaire et le reste du cytoplasme (**Fig. 22, 23**). Les inclusions granulaires sont relativement denses aux électrons et réparties sous forme de groupes de manière hétérogène. Les moyennes de surface, de couverture et de densité des inclusions granulaires de 6 photophores contrôles fermés (nombre d'inclusions granulaires mesurées par photophore : 374 ; 78 ; 323 ; 210 ; 340 ; 175) ont été mesurées et valent respectivement  $0,03 \pm 0,01 \mu\text{m}^2$  (le diamètre vaut en moyenne  $0,20 \mu\text{m}$ ),  $11,36 \pm 3,00 \%$  et  $2,79 \pm 0,63 /\mu\text{m}^2$ . Des « particules grises » sont également visibles dans certains photophores et apparaissent moins denses aux électrons que les inclusions granulaires (**Fig. 23**). Les particules grises ont uniquement été observées au sein des photophores sans traitement. Enfin, une sécrétion est observée dans la zone granulaire (**Fig. 19 et 22**). Les coupes en série ont permis de déterminer que cette sécrétion se trouvait au centre du photophore (**Fig. 20**). Précédemment décrite comme sécrétion acidophile par Hubbs *et al.* (1967), elle est colorée par le bleu de méthylène (**Fig. 19**), colorant acide, sur les coupes semi-fines et apparaît dense aux électrons au TEM (**Fig. 22**).



**Figure 23.** Photomicrographies en grossissement x2700 de la zone granulaire d'un photophore contrôle. A) Zone granulaire entourée de la zone vésiculaire et de la couche pigmentaire. La transition entre le photocyte et la couche pigmentaire n'est pas distincte et beaucoup de mélanosomes sont présents. B) Transition entre la zone granulaire et vésiculaire. La flèche bleue montre les inclusions granulaires (A,B), la flèche blanche indique la frontière entre la zone granulaire et la zone vésiculaire (B), et la flèche jaune les particules grises (A,B). C : cytoplasme, CP : couche pigmentaire, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire, V : vésicule. Échelles (A, B) : 5  $\mu\text{m}$ .

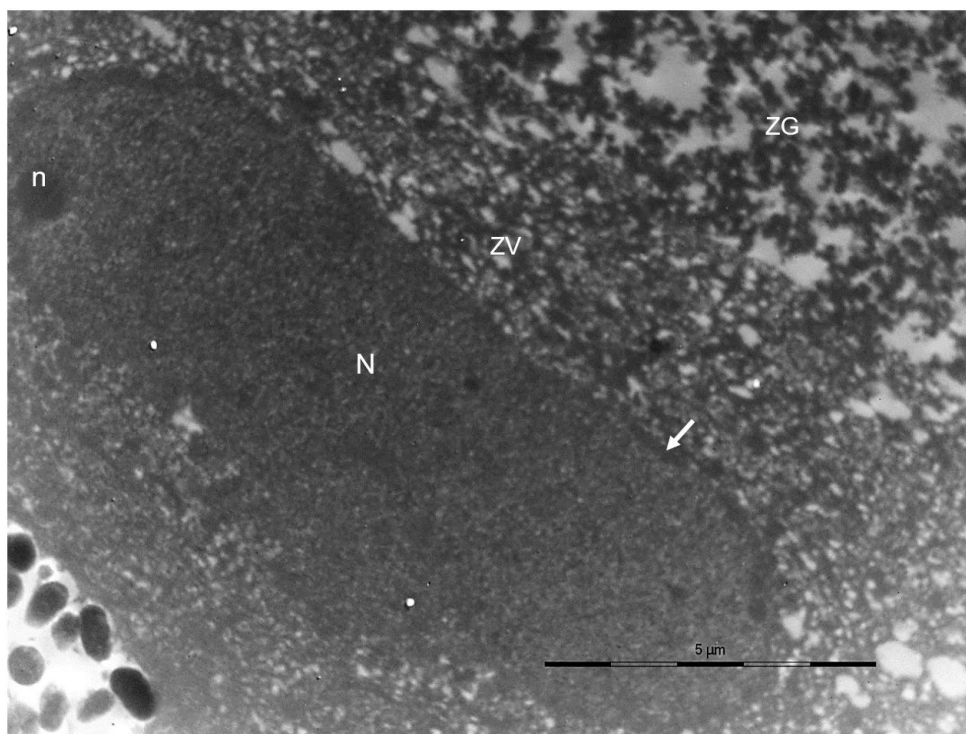


**Figure 24.** Photomicrographie en grossissement  $\times 2700$  (A) et  $\times 4600$  (B) de la zone vésiculaire. La flèche jaune indique la membrane cellulaire du photocyte et la flèche blanche la potentielle présence du réticulum endoplasmique. Les vésicules sont grises (A) ou claires aux électrons (B). CP : couche pigmentaire, V : vésicules, ZV : zone vésiculaire. Échelle (A) :  $5 \mu\text{m}$ , (B) :  $3 \mu\text{m}$ .

### ***Zone vésiculaire***

Dans la partie apicale du photocyte se trouve la zone vésiculaire. Elle contient de nombreuses vésicules de formes et tailles variables ainsi que du tissu photocytaire apparaissant gris au TEM (**Fig. 24**). Les vésicules peuvent apparaître transparentes aux électrons, vides, grises ou

semblant contenir du matériel en leur sein. Le reste du cytoplasme est en continuum avec la zone vésiculaire et encercle entièrement la zone granulaire jusqu'à la base du photocyte (**Fig. 22**). La zone vésiculaire délimite ainsi la fin du photocyte et la membrane plasmique délimitant le photocyte peut être observée (**Fig. 24**). Cependant, la frontière avec la couche pigmentaire n'est pas toujours nettement distincte et le cytoplasme semble présenter de nombreux prolongements à travers la couche pigmentaire (ex. **Fig. 23**). Des organites du cytoplasme sont observables en périphérie, sur la **Figure 24** le réticulum endoplasmique rugueux du photocyte est visible. Enfin, le noyau est centré dans la partie apicale de la zone vésiculaire (**Fig. 21 et 25**). Il est de forme ovale et aplatie et mesure environ  $10,75 \pm 1,60 \mu\text{m}$  de long ( $N = 3$ ).

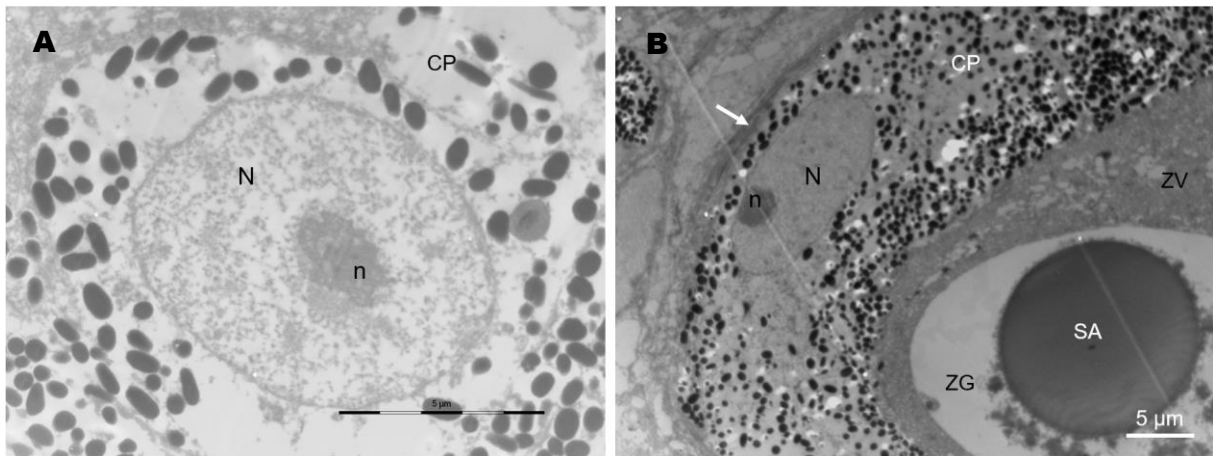


**Figure 25.** Photomicrographie en grossissement x2700 d'un noyau de photocyte au sein de la zone vésiculaire. La flèche blanche indique la membrane nucléaire. Le nucléole est visible. N : noyau, n : nucléole, ZV : zone vésiculaire, ZG : zone granulaire.

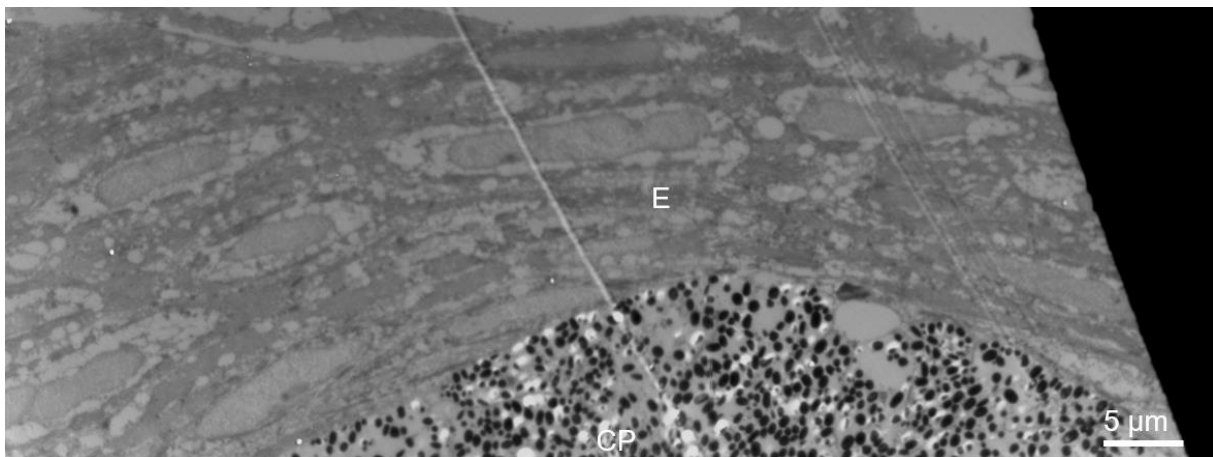
### 3.1.3 Couche pigmentaire

Les photophores contiennent une épaisse couche (ou gaine) pigmentaire fermée (**Fig. 19, 21, 22**) incluse au sein de l'épiderme de la peau qui délimite ainsi l'extrémité du photophore. La surface moyenne de la couche pigmentaire est de  $1871,34 \mu\text{m}^2$  ( $N = 44$ ) constituant une proportion importante du photophore (le rapport de la surface du photophore sur celle de la couche pigmentaire vaut 0,63). Les pigments des mélanophores, les grains de mélanine, présentent une coloration brune foncée en semi-fines et apparaissent noirs et denses au TEM.

Ils semblent regroupés en nombreux mélanosomes (Fig. 26). Les coupes ultra-fines ont permis de révéler la présence des noyaux des mélanophores (Fig. 26). La membrane délimitant les mélanophores, et ainsi le photophore, est visible.



**Figure 26.** Mélanophores au grossissement  $\times 2700$  (A) et  $\times 1000$  (B). La membrane du mélanophore est indiquée par une flèche blanche (A). Les nucléoles des noyaux des mélanophores sont observables (A,B). CP : couche pigmentaire, N : noyau mélanophore, n : nucléole, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire. Échelles (A, B) : 5  $\mu\text{m}$ .

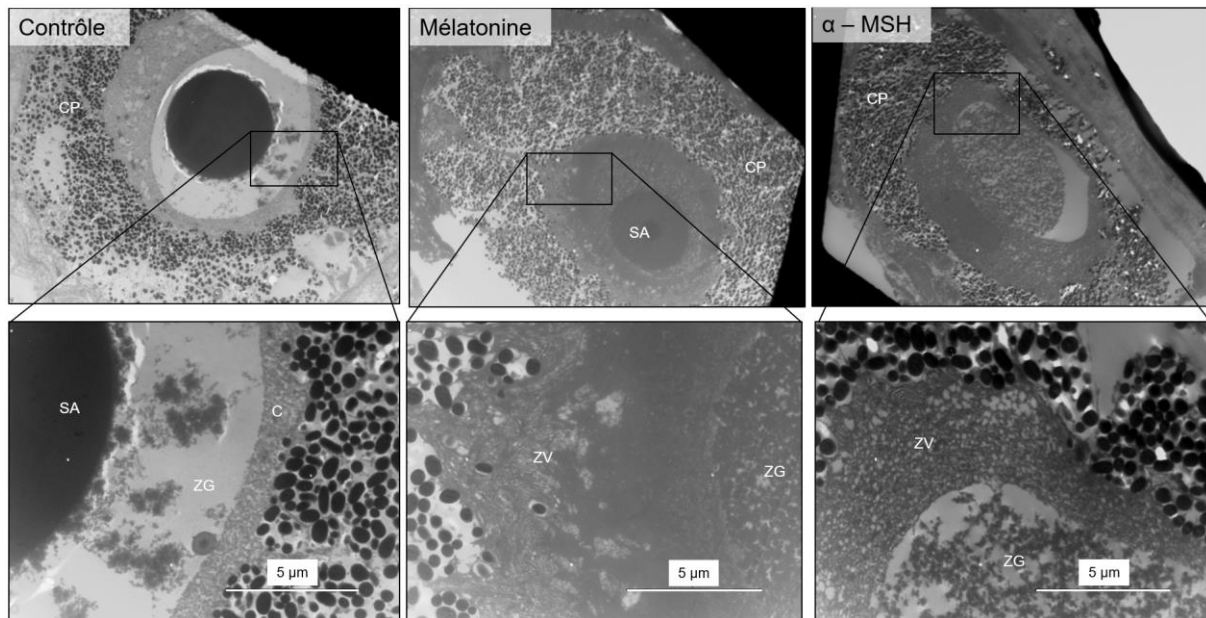


**Figure 27.** Grossissement  $\times 1000$  de structures cellulaires épidermiques situées au sommet du photophore. CP = couche pigmentaire, E = épiderme.

### 3.2 MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES SOUS TRAITEMENT HORMONAL

L'émission lumineuse de *D. licha* est stimulée par l'hormone mélatonine (MT) et inhibée par l'hormone stimulant les  $\alpha$ -mélanocytes ( $\alpha$ -MSH). Les traitements hormonaux de ces deux hormones ont montré des modifications morphologiques au sein de la couche pigmentaire, de la zone granulaire et de la zone vésiculaire des photophores. Les coupes ultra-fines des photophores sans traitement hormonal ( $n = 11$ ), et les photophores sous traitement mélatonine

(n = 6) et  $\alpha$ -MSH (n = 6) sont d'abord comparés morphologiquement d'un point de vue visuel (**Fig. 28**). Ensuite, des mesures comparant la densité, la couverture et le diamètre des inclusions granulaires ont été réalisées uniquement pour les photophores sous traitements hormonaux. En effet, les photophores contrôles n'ont pas été repris pour les comparer statistiquement car, étant à l'état sauvage, l'état de luminescence exact de ces photophores n'est pas connu.

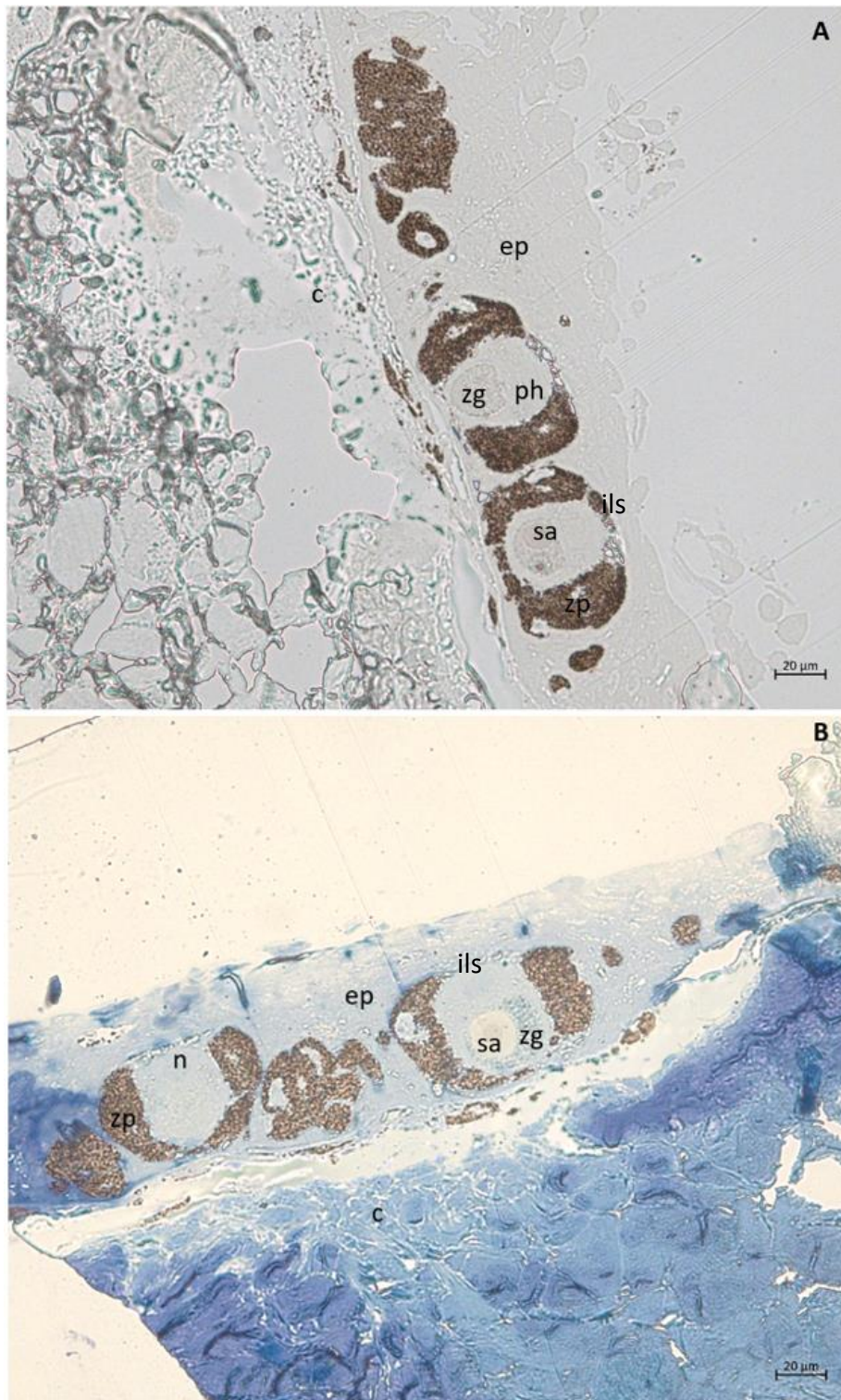


**Figure 28.** Comparaison des photophores dans les conditions de contrôle et de traitement hormonal mélatonine et  $\alpha$ -MSH. Le cytoplasme de la zone vésiculaire ainsi que la zone granulaire apparaissent plus denses sous traitement hormonal (B,C). La flèche jaune montre des inclusions granulaires (A, B, C). C : cytoplasme, CP : couche pigmentaire, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire. Échelle : 5  $\mu$ m.

### 3.2.1 Stimulation par la mélatonine

Les photophores sous traitement hormonal mélatonine (MT) présentent une couche pigmentaire ouverte au niveau de la zone apicale des photocytes, très nettement observable sur les coupes semi-fines (**Fig. 29**) et dont l'observation a pu être confirmée sur certaines ultra-fines de qualité suffisante (**Fig. 30**). Les pigments des mélanophores se rétracteraient donc sous l'action de la mélatonine permettant une ouverture au sommet du photophore vers l'environnement extérieur. La stimulation par la MT permet ainsi de mettre en évidence la présence de la structure ressemblant à l'iris (ILS, *iris like structure*) qui ferait partie de la gaine pigmentaire. Les mélanophores constituant l'ILS auraient donc des projections de type pseudopodes surmontant la zone apicale du photophore depuis lesquels les pigments se rétractent sous l'action de la mélatonine. Par ailleurs, les tissus traités à la mélatonine présentent une zone granulaire plus

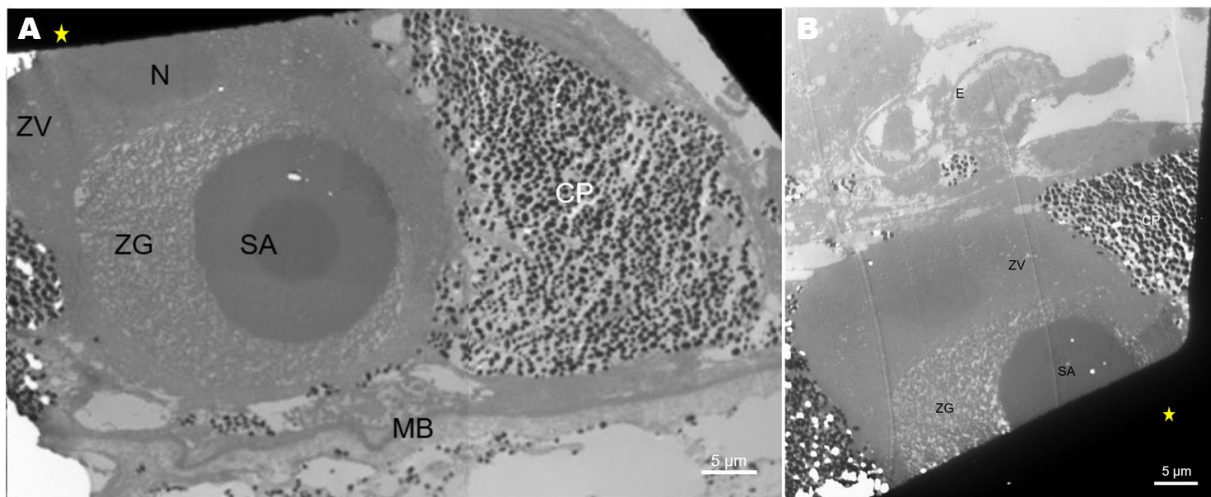
dense en inclusions granulairesque celle observée pour les tissus contrôles sans traitement hormonal, autant sur les coupes semi-fines que ultra-fines et sont distribués de manière homogène (Fig. 19, 28, 29).



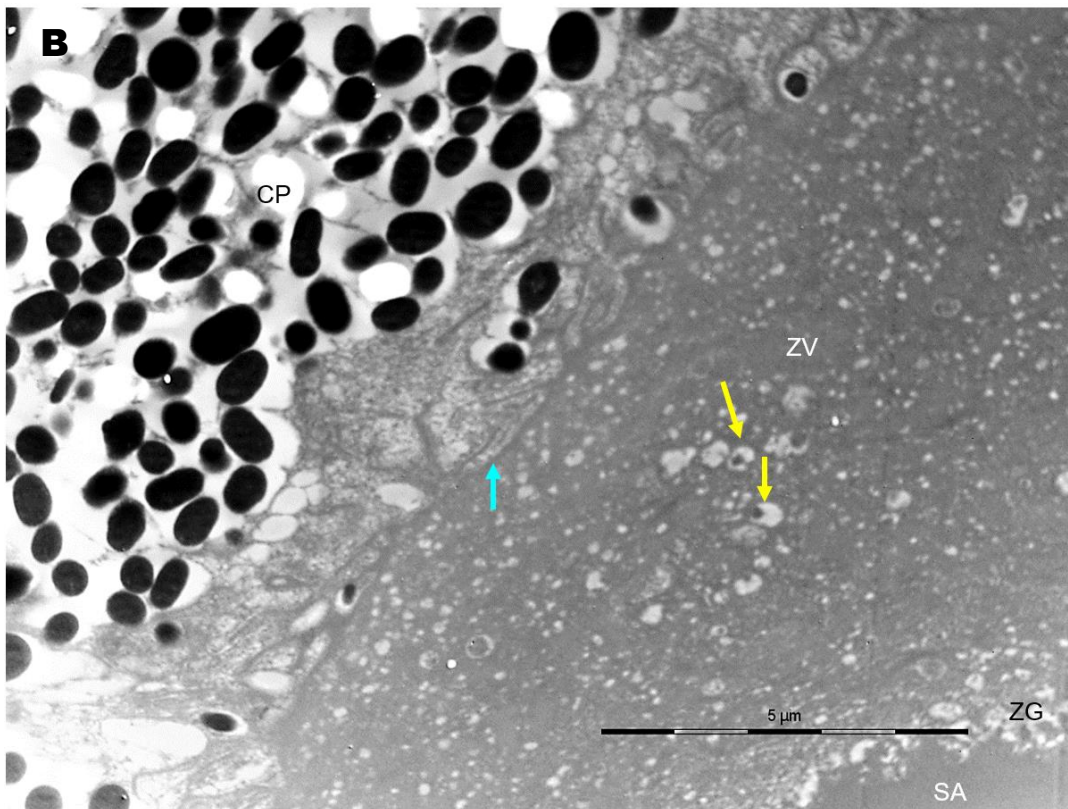
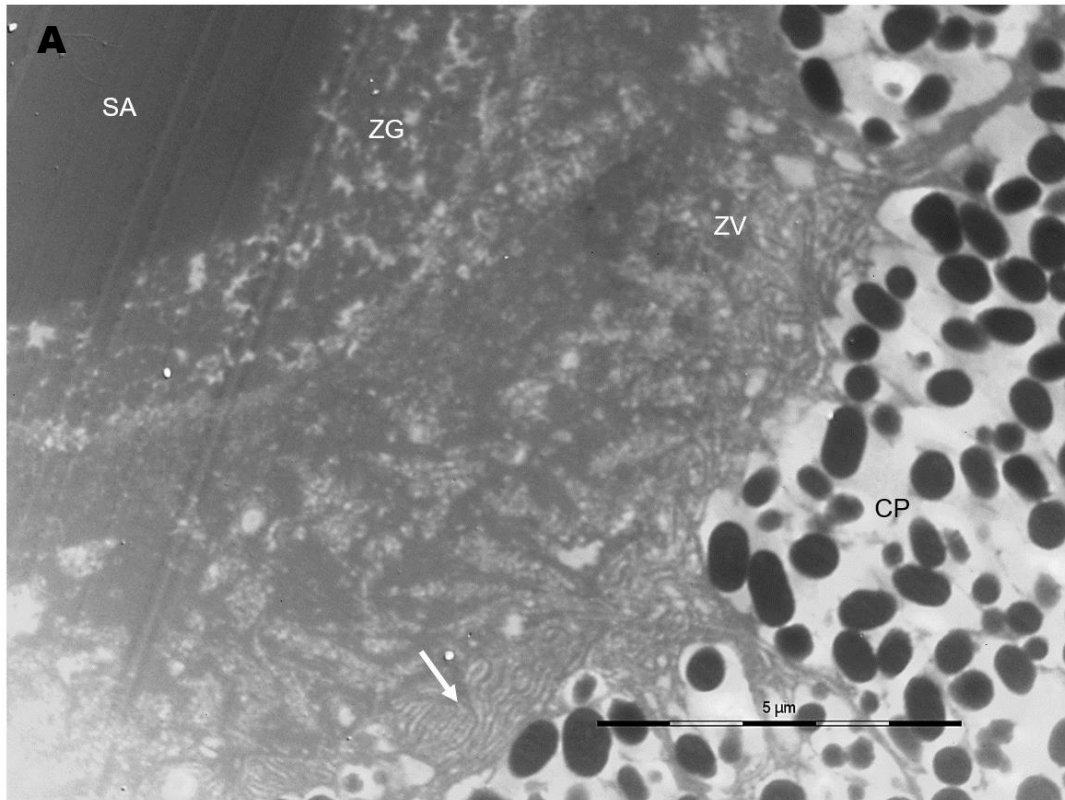
**Figure 29.** Coupe longitudinale semi-fine de photophores sous traitement mélatonine. A) Sans coloration. B) Coupe histologique colorée au bleu de méthylène. c : tissu conjonctif, ep :

*épiderme, ils : iris-like structure, n : noyau, ph : photocyte, sa : sécrétion acidophile, zg : zone granulaire, zp : zone pigmentaire.*

Contrairement aux contrôles, la zone granulaire ne semble pas présenter de particules grises. Enfin, le cytoplasme au niveau de la zone vésiculaire apparaît plus dense que pour les photophores contrôles. Au sein du cytoplasme très dense, les vésicules ne sont pas toujours distinguables et semblent remplies d'un matériel possiblement semblable aux inclusions granulaires. De plus, le réticulum endoplasmique rugueux (RER) semble plus développé (**Fig. 31**). Cette plus grande densité avec un RER nettement visible et des zones cytoplasmiques très denses aux électrons montreraient qu'il y a une activité cellulaire et potentiellement une production très active de substrats pour l'émission lumineuse.



**Figure 30.** Coupe ultra-fine longitudinale au grossissement  $\times 700$  de photophores ouverts sous traitement mélatonine. Le maillage des grilles de cuivre utilisées pour observer les ultra-fines sont marquées d'une étoile jaune. A) Ensemble du photocyte, sa base et la couche pigmentaire à droite. La couche pigmentaire est rétractée en forme de croissant de lune et est absente du sommet (A) et de la base du photocyte (B). B) Sommet du photocyte ouvert vers l'épiderme et l'environnement extérieur. E : épiderme, CP : couche pigmentaire, MB : membrane basale, N : noyau, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.

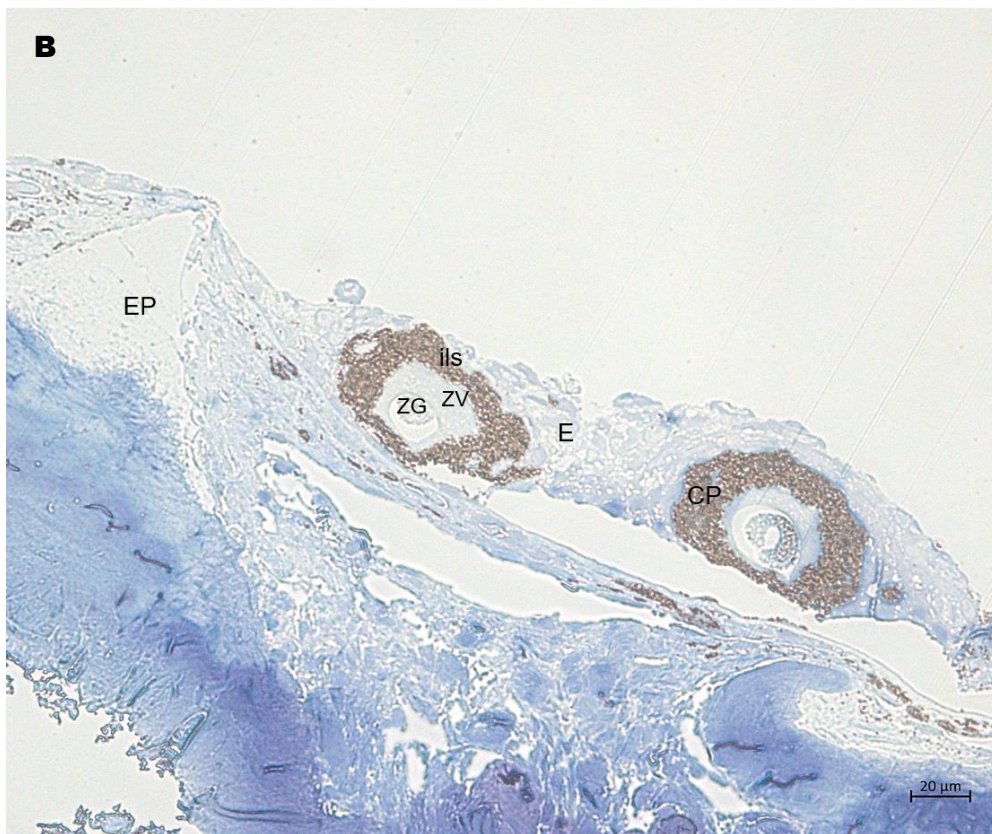


**Figure 31.** Photomicrographies au grossissement  $\times 2700$  de photophores sous traitement mélatonine (A, B). A) La flèche blanche indique le réticulum endoplasmique rugueux., B) La flèche bleue indique la membrane cellulaire du photocyte et les flèches jaunes des vésicules

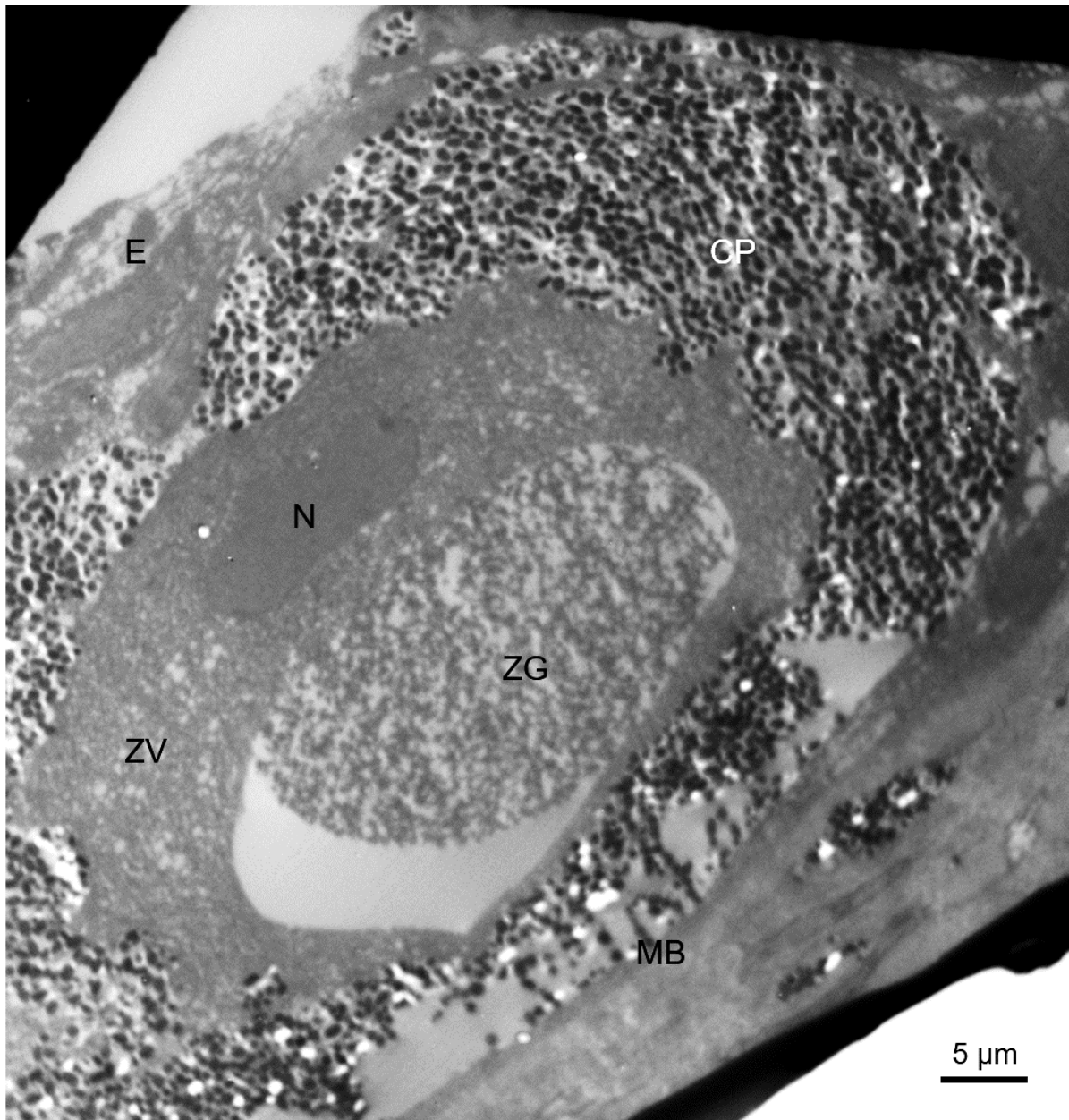
*contenant du matériel. CP : couche pigmentaire, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.*

### 3.2.2 Inhibition par l' $\alpha$ -MSH

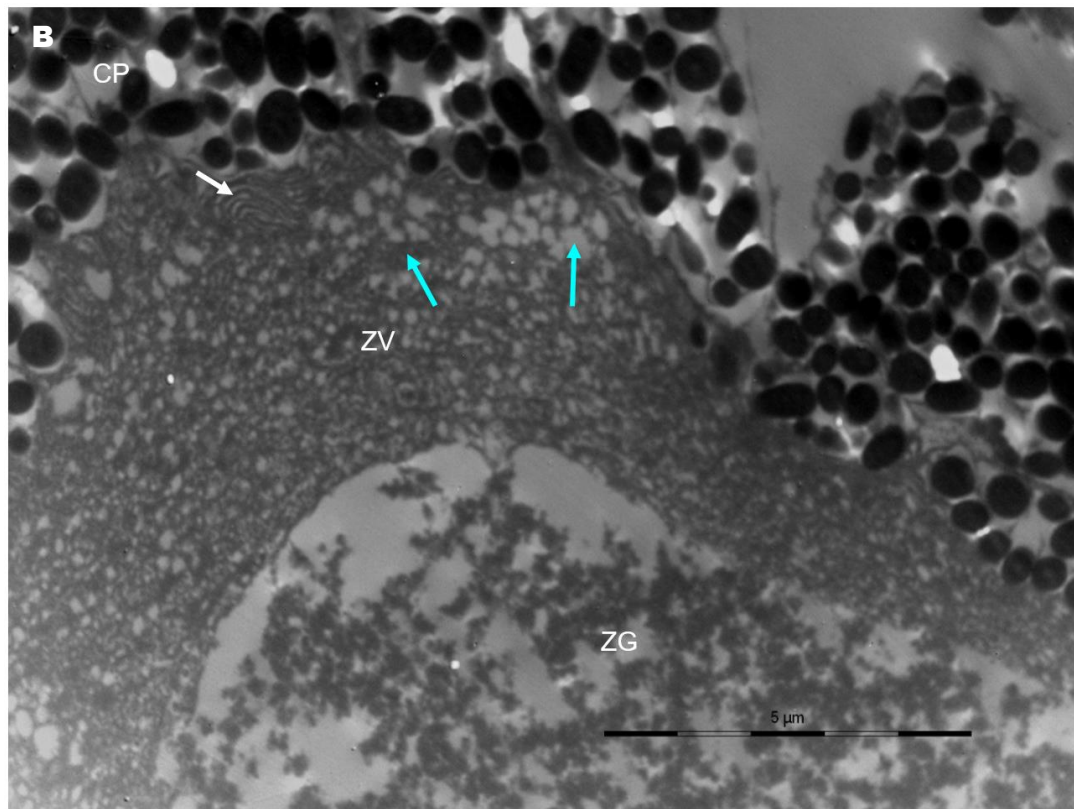
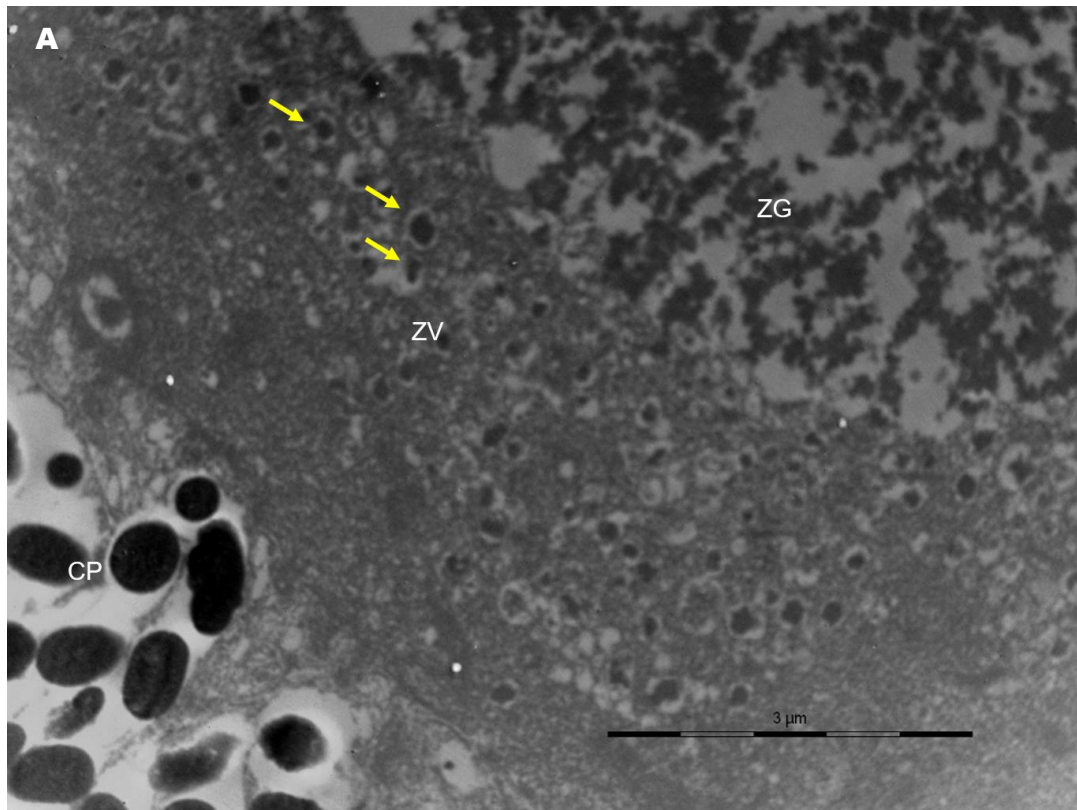
Le traitement à l'  $\alpha$ -MSH engendre une dispersion des pigments au sein des projections cytoplasmiques des mélanophores, la couche pigmentaire reprenant sa forme sphérique fermée initiale retrouvée chez les photophores contrôles (**Figs. 19, 28, 32, et 33**). Cependant, tous les photophores observés ne présentaient pas une couche pigmentaire complètement fermée (fermée, n = 15 ; ouverte, n = 2) (**Fig. 32.A**). Au niveau de la zone granulaire, les tissus traités à l'  $\alpha$ -MSH montrent des inclusions granulaires plus agrégées entre elles que les tissus contrôles mais moins denses que ce qui est observé pour les tissus sous mélatonine (**Figs. 19, 28, 32**). Parallèlement aux photophores sous MT, aucune particule grise n'a été observée au sein de la zone granulaire. La morphologie du photophore sous l'effet inhibiteur d'  $\alpha$ -MSH semble être dans un état transitoire entre un photophore stimulé via la mélatonine et un photophore contrôle, retournant petit à petit vers son état initial sans réaction chimique luminescente. Au niveau de la zone vésiculaire, le cytoplasme apparaît plus dense que les photophores contrôles mais semble l'être moins que ce qui est observé pour les photophores sous mélatonine (**Fig. 28**). Des différences sont observées au niveau des vésicules : certains photophores sous traitement  $\alpha$ -MSH présentent des vésicules contenant du matériel semblant correspondre aux inclusions granulaires tandis que d'autres photophores présentent des vésicules apparaissant vides (**Fig. 34**). Tout comme pour les photophores sous traitement MT, les photophores inhibés montrent un réticulum endoplasmique rugueux assez apparent (**Fig. 34**). Par ailleurs, sur certaines coupes de photophores, dont plusieurs traités à l'  $\alpha$ -MSH, un capillaire sanguin avec ses globules rouges peut être observé sous la base du photophore (**Fig. 35**).



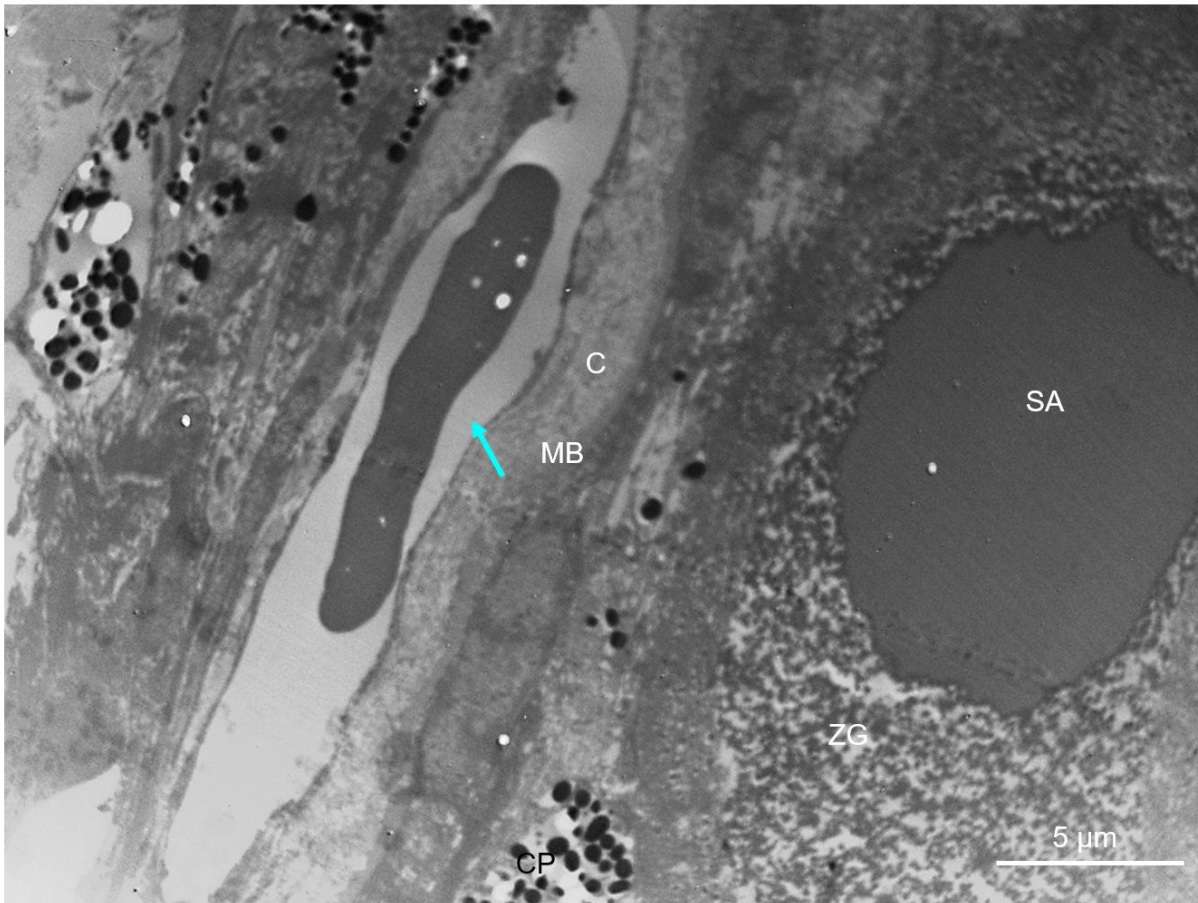
**Figure 32.** Coupe longitudinale semi-fine de photophores sous traitement  $\alpha$ -MSH sans coloration (A) et colorée au bleu de méthylène (B). CP : couche pigmentaire, E : épiderme, EP : écaille placœide, ils : iris-like structure, MB : membrane basale, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire.



**Figure 33.** Photomicrographie d'un photophore sous traitement  $\alpha$ -MSH en grossissement  $\times 600$ . CP : couche pigmentaire, E = épiderme, MB : membrane basale, N : noyau, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.



**Figure 34.** Photomicrographies de photophores sous traitement  $\alpha$ -MSH A) au grossissement  $\times 4600$  avec des vésicules remplies et B) au grossissement  $\times 2700$  avec des vésicules vides. La flèche blanche indique le réticulum endoplasmique rugueux, les flèches bleues les vésicules vides et les flèches jaunes des vésicules contenant du matériel. CP : couche pigmentaire, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.

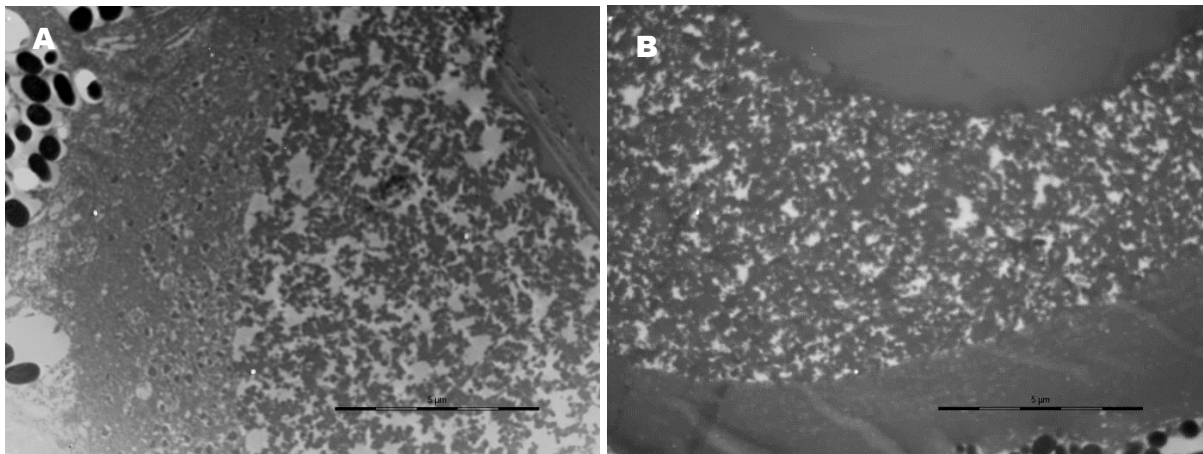


**Figure 35.** Coupe longitudinale d'un photophore sous traitement  $\alpha$ -MSH au grossissement  $\times 1600$  montrant un capillaire sanguin (flèche bleue) sous la membrane basale. C : tissu conjonctif, CP : couche pigmentaire, MB : membrane basale, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire.

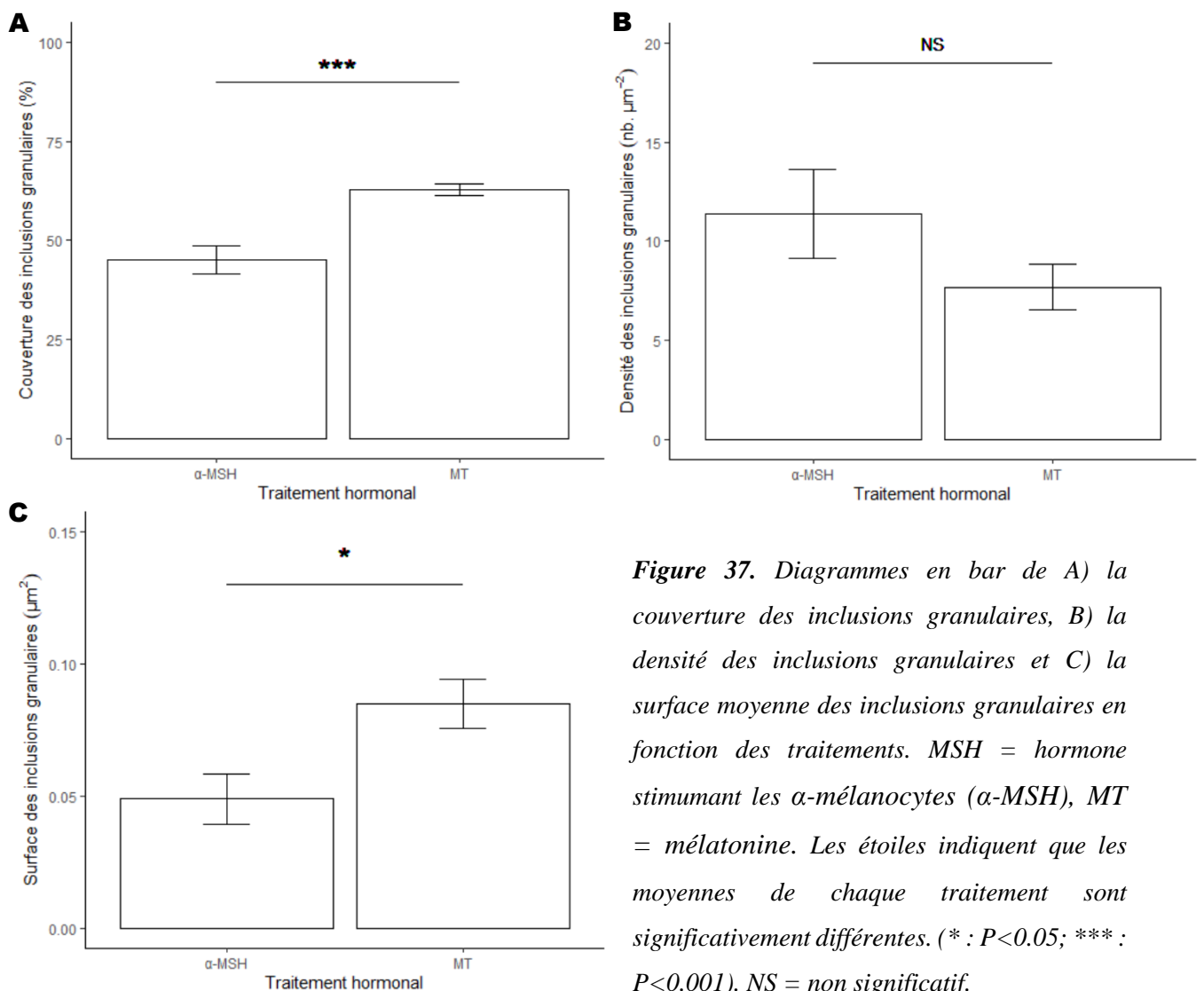
### 3.2.3 Comparaisons des inclusions granulaires en fonction des traitements MT et $\alpha$ -MSH

La surface moyenne, la densité d'inclusions granulaires par  $\mu\text{m}^2$  et la couverture d'inclusions granulaires au sein de la zone granulaire ont été mesurées pour les deux traitements hormonaux appliqués (MT et  $\alpha$ -MSH; **Fig. 36, 37**). Les inclusions granulaires sous traitement mélatonine présente un pourcentage de couverture de la zone granulaire significativement plus important que sous traitement  $\alpha$ -MSH, en moyenne  $62,89 \pm 1,46 \%$  contre  $45,02 \pm 3,50 \%$  (valeur de p du test de Student : 0,0008). La densité des inclusions granulaires avec MT est sensiblement plus faible que pour  $\alpha$ -MSH mais cette différence n'est pas significative : une densité de  $7,69 \pm 1,13/\mu\text{m}^2$  contre  $11,39 \pm 2,24/\mu\text{m}^2$  (valeur de p du test de Student : 0,1707). Enfin, la surface moyenne des inclusions sous MT est significativement plus grande, valant  $0,096 \pm 0,013 \mu\text{m}^2$  (le diamètre moyen vaut ainsi  $0,35 \mu\text{m}$ ) pour la MT et  $0,049 \pm 0,009 \mu\text{m}^2$  (le diamètre moyen

vaut ainsi  $0,24\mu\text{m}$ ) pour l' $\alpha$ -MSH (valeur de p du test de student :  $0,0164$ ), ce qui est en accord avec une densité plus faible, les inclusions s'agrégeant potentiellement entre elles.



**Figure 36.** Zones granulaires au grossissement  $\times 2700$  de photophores A) inhibés par l' $\alpha$ -MSH et B) stimulés par la mélatonine. Echelle =  $5\mu\text{m}$ .



**Figure 37.** Diagrammes en bar de A) la couverture des inclusions granulaires, B) la densité des inclusions granulaires et C) la surface moyenne des inclusions granulaires en fonction des traitements. MSH = hormone stimulant les  $\alpha$ -mélanocytes ( $\alpha$ -MSH), MT = mélatonine. Les étoiles indiquent que les moyennes de chaque traitement sont significativement différentes. (\* :  $P < 0.05$ ; \*\*\* :  $P < 0.001$ ). NS = non significatif.

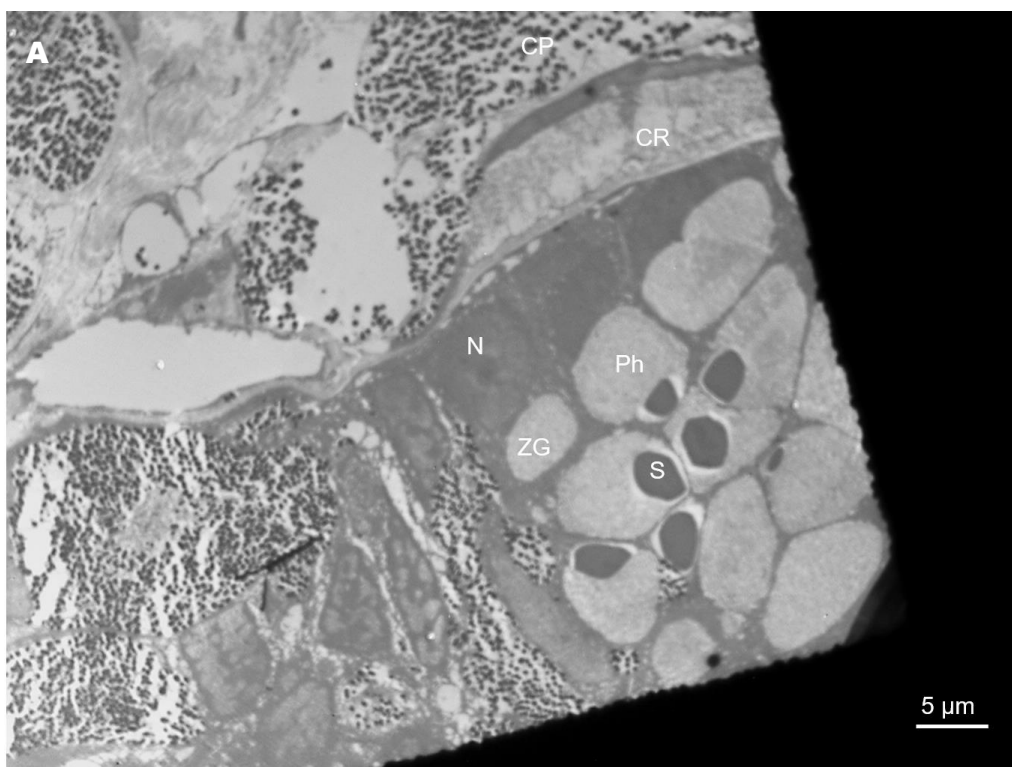
### 3.3 PREMIER APERÇU DE L'ULTRASTRUCTURE D'*ETMOPTERUS LUCIFER*

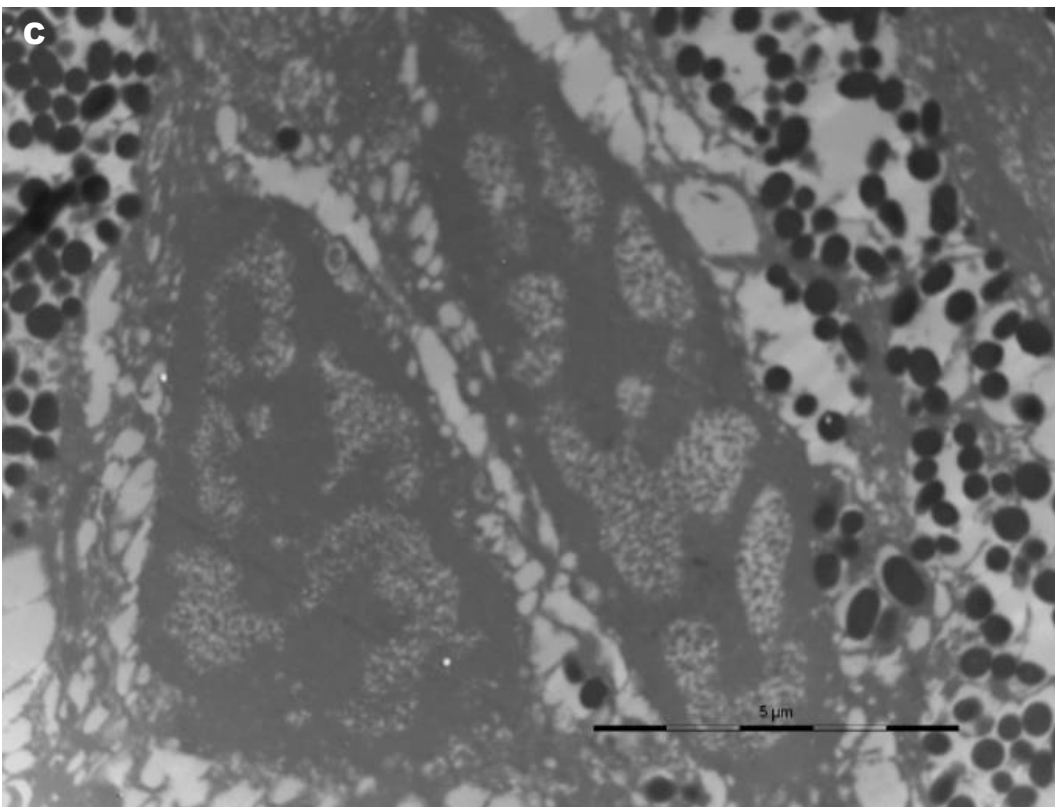
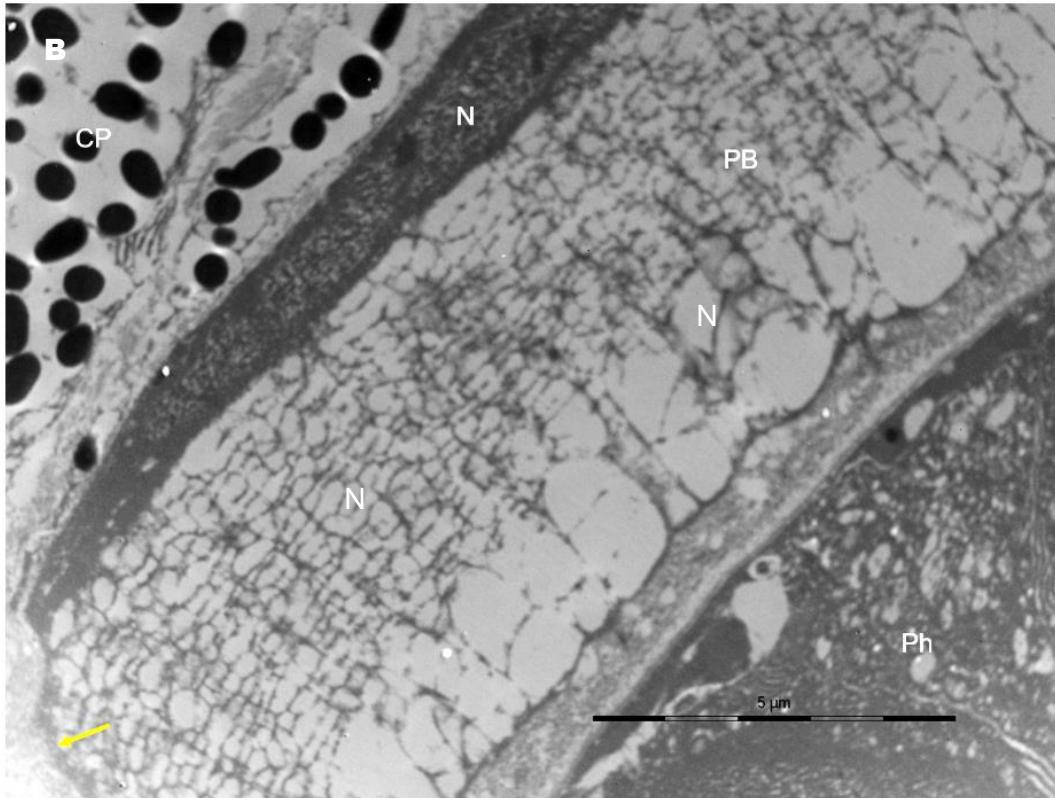
Deux photophores sans traitement hormonal d'*Etmopterus lucifer* ont été observés au TEM.

Le photophore est constitué à sa base d'une couche pigmentaire enfermant une couche réticulaire (ou réflecteur) et de plusieurs photocytes (entre 8 et 13 dans les deux photophores observés) – les 13 photocytes sont distinguables sur la **Figure 38**.

Les photocytes semblent régionalisés contenant une zone remplie d'inclusions granulaires comparable à la zone granulaire de *Dalatias licha* et une seconde zone contenant le reste du cytoplasme avec le noyau présent en son sein (**Fig. 39**). Egalement, une sécrétion très dense aux électrons est observée au sein de la zone granulaire, cette structure serait similaire à la sécrétion observée chez *D. licha*. Un réseau très développé, interconnecté et parallèle de citernes du réticulum endoplasmique y est aussi présent (**Fig. 39**). Enfin, des vaisseaux capillaires peuvent être observés à proximité du photophore. Les diamètres de deux photocytes nettement distinguables et contenant tous deux la zone granulaire et le noyau ont été mesurés et valent en moyenne  $11,48 \pm 0,13 \mu\text{m}$  et le diamètre des inclusions granulaires en moyenne  $0,16 \mu\text{m}$ .

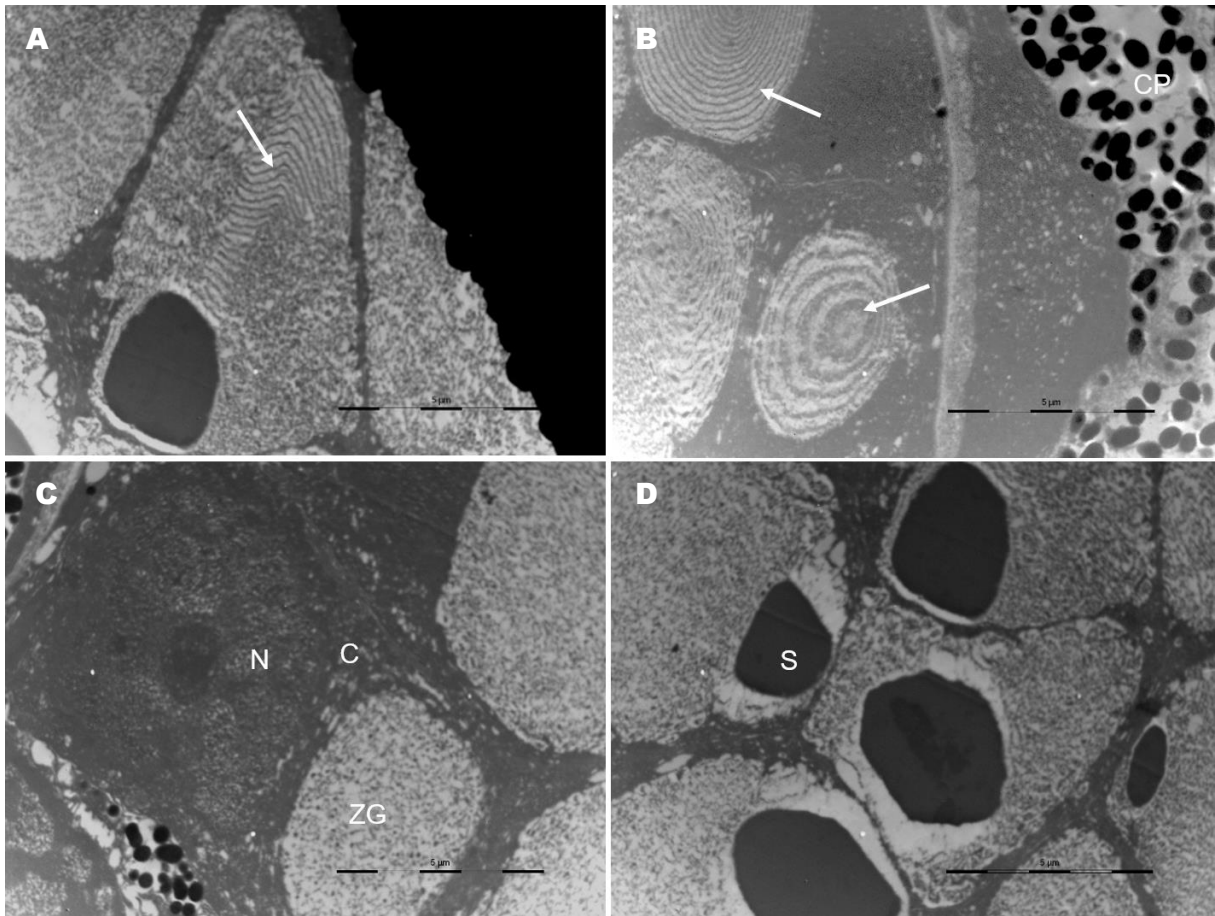
La couche réticulaire est observée à la base du photophore. Elle est constituée d'une matrice cellulaire de boxes polygonales interconnectées apparaissant vides sous le faisceau d'électrons (**Fig. 38 B**). Le noyau, long et fusiforme, est aplati à la base de la cellule.





**Figure 38.** A) Coupe longitudinale d'un photophore d'*Etmopterus lucifer* au grossissement  $\times 600$ . B) Couche réticulaire au grossissement  $\times 2700$ . C) Noyaux situés au sommet du photophore, l'hétérochromatine apparaît dense aux électrons et l'euchromatine claire aux électrons. CP : couche

pigmentaire, CR : couche réticulaire, N : noyau, PB : matrice de boîtes polygonales, Ph : photocyte, S : sécrétion, ZG : zone granulaire. La délimitation du réflecteur est indiquée par une flèche jaune.



**Figure 39.** Coupes de différentes orientations de photocytes au grossissement  $\times 2700$ . Les flèches blanches indiquent le réticulum endoplasmique rugueux (A, B). C) Le noyau est bien visible ainsi que le reste du cytoplasme du photocyte. D) Zoom sur les sécrétions présentes dans la zone granulaire. C : cytoplasme du photocyte, CP : couche pigmentaire, N : noyau, S : sécrétion, ZG : zone granulaire.

## 4 DISCUSSION

---

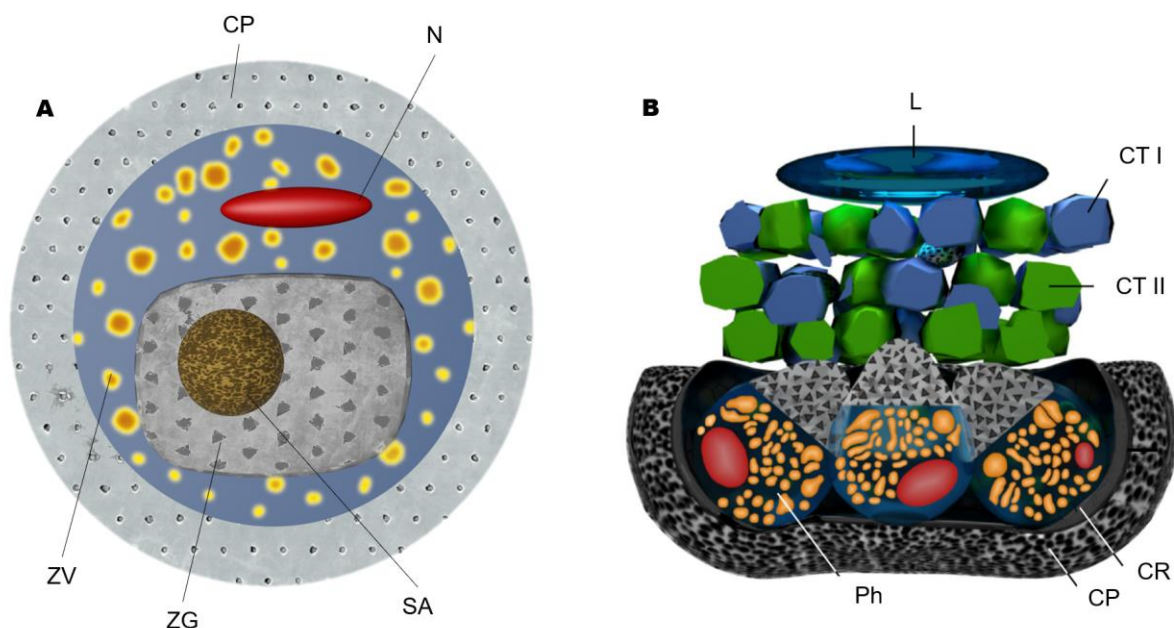
La bioluminescence est un trait écologique important dans les milieux marins, produite par un très grand nombre d'organismes provenant de phylums très distincts dont trois familles de requins Squaliformes, les Etmopteridae, les Dalatiidae et les Somniosidae (Haddock *et al.*, 2010 ; Duchatelet *et al.*, 2021b). Ce trait étant apparu indépendamment 94 fois à travers l'arbre de vie (Lau et Oakley, 2020), une grande variété de structures productrices de lumière, de mécanismes contrôlant et modulant l'émission lumineuse et de fonctions ont été développées. Chez les requins lumineux, la lumière est produite au sein d'un organe complexe, un photophore contenant un (Dalatiidae, Somniosidae) ou plusieurs (Etmopteridae) photocytes entourés d'une gaine pigmentaire et surmontés d'une structure en forme d'iris (ILS, *iris-like structure*) et de cellules de lentille (Duchatelet *et al.*, 2021b). Deux espèces de Dalatiidae font exception et montrent une structure différente, émettant de la lumière dans l'environnement via des glandes sécrétrices (Munk et Jorgensen, 1988; Claes *et al.*, 2020). Les requins lumineux sont les seuls organismes à travers les taxons bioluminescents à contrôler leur luminescence par voie hormonale (Claes et Mallefet, 2009b).

Chez les Etmopteridae, l'organisation ainsi que l'effet des traitements hormonaux stimulant l'émission lumineuse des photophores d'*Etmopterus spinax* ont été décrits à l'échelle ultrastructurale par Renwart *et al.* (2014, 2015) tandis que pour les Dalatiidae et les Somniosidae encore aucune étude n'a été réalisée. Ce mémoire a permis de décrire l'organisation ultrastructurale des photophores de *Dalatius licha*, et d'y observer les changements morphologiques s'y déroulant au sein des structures intracellulaires durant l'émission lumineuse (via un traitement à la mélatonine) et durant l'inhibition de cette dernière (via un traitement à l'hormone stimulant les  $\alpha$ -mélanocytes), puis de comparer ces résultats avec ce qui a été décrit pour *E. spinax*. Cette étude offre également un premier aperçu de l'ultrastructure d'un second Etmopteridae, *E. lucifer*, pour lequel une description moins approfondie a été réalisée due à l'observation d'une quantité moins conséquente de photophores.

### 4.1 ULTRASTRUCTURE COMPARÉE DES DALATIIDAE ET ETMOPTERIDAE

Dans cette étude, les coupes semi-fines en série ont permis une analyse détaillée des composants cellulaires des photophores et de développer un modèle 3D du photophore de *Dalatius licha* (**Fig. 41**). Les photophores étudiés présentent une forme sphérique et sont situés

dans l'épiderme pavimenteux stratifié. Ils sont composés d'une gaine pigmentaire épaisse et sphérique – lorsque le photophore est fermé et sous forme de croissant durant l'émission lumineuse – englobant entièrement une unique cellule émettrice de lumière, le photocyte, qui est régionalisée en deux parties. La gaine pigmentaire joue également le rôle de l'ILS permettant l'ouverture et la fermeture du photophore durant la stimulation et l'inhibition de l'émission lumineuse respectivement. La zone basale du photocyte contient une zone granulaire remplie d'une sécrétion acidophile et d'inclusions granulaires. Ces dernières semblent être les mêmes microsources, les glowons, que celles identifiées chez *E. spinax* et cette zone granulaire serait donc le site intracellulaire de la réaction biochimique de bioluminescence (Renwart *et al.*, 2014). La zone apicale contient un noyau positionné centralement à l'apex et de nombreuses vésicules de formes variables, la caractérisant de zone vésiculaire. Contrairement à de précédentes études sur les Dalatiidae et Etmopteridae (Hubbs, 1967; Seigel, 1978; Renwart *et al.*, 2014; Delroisse *et al.*, 2021a; Duchatelet *et al.*, 2021b; Mallefet *et al.*, 2021 ) aucune cellule de lentille n'a été identifiée au sommet du photophore de *D. licha* (**Fig. 41**). Par ailleurs, l'analyse d'*E. spinax* au TEM avait permis de découvrir une nouvelle couche, la couche réticulaire, identifiée comme étant le réflecteur et est située entre la gaine pigmentaire et les photocytes (Renwart *et al.*, 2014). *D. licha* ne présente pas de structure qui correspondrait à un réflecteur à la base du photophore. Inversement, chez *E. lucifer*, une couche réticulaire avec une structure correspondant au réflecteur d'*E. spinax* a été observée. Le photophore d'*E. lucifer* est constitué à sa base d'une couche pigmentaire enfermant le réflecteur et plusieurs photocytes.



**Figure 41.** Vis-à-vis des modèles 3D des photophores des Dalatiidae et des Etmopteridae. **A)** Modèle 3D du photophore fermé de *D. licha*. Réalisé avec Nathan Puozzo. ; **B)** Modèle 3D du photophore d'*Etmopterus spinax*. Issue de Renwart et al., 2014. CP : couche pigmentaire, L : lentille, N : noyau, SA : sécrétion acidophile, ZG : zone granulaire, ZV : zone vésiculaire.

Les diamètres maximaux des photophores des Etmopteridae, Dalatiidae et Somniosidae sont respectivement de 50, 100 et 150  $\mu\text{m}$ , ce qui est considérablement petits en comparaison de ceux des poissons osseux allant du millimètre au centimètre (Claes et Mallefet, 2008; Mallefet et al., 2021). Ici, le diamètre des photophores de *D. licha* étudiés mesure en moyenne  $60,86 \pm 1,26 \mu\text{m}$ , une taille très proche des photophores des autres espèces de Dalatiidae, *I. brasiliensis* (56  $\mu\text{m}$ ) et *S. aliae* (50  $\mu\text{m}$ ). Cependant, cette mesure est plus petite que ce qui a été étayé dans l'étude précédente de *D. licha* par Mallefet et al. (2021) qui ont mesuré un diamètre moyen de  $83,9 \pm 9,5 \mu\text{m}$ . Ces différences de mesure pourraient être dues à la zone de peau contenant des photophores utilisée dans chacune des études. En effet, lors de cette étude uniquement des photophores de la zone ventrale de *D. licha* ont été étudiés. Cependant Mallefet et al. (2021) n'ont pas trouvé de différence dans le diamètre des photophores en fonction des zones du corps, ventrale, pecto-ventrale et infra-caudale, qui présentent toutes une grande quantité de photophores. Ces différences de mesures peuvent également être potentiellement liées aux techniques histologiques utilisées, des coupes au cryostat de 10  $\mu\text{m}$  d'épaisseur contre des coupes à l'ultramicrotome de 600 nm et 90 nm utilisées dans cette étude. L'utilisation de coupes offrant une échelle plus fine est adaptée pour la taille de ces photophores très petits pour permettre d'observer en détail les cellules avec leurs structures intracellulaires – le photocyte ne mesurant qu'en moyenne  $36,45 \pm 1,05 \mu\text{m}$  de diamètre. Par ailleurs, les photocytes de *D. licha* sont ainsi plus de deux fois plus grand que ceux présents au sein des photophores d'*E. spinax* mesurant en moyenne  $15,46 \pm 0,51 \mu\text{m}$  (Renwart et al., 2014) et plus de trois fois plus grand pour les photocytes d'*E. lucifer* mesurés ici 11,47  $\mu\text{m}$ . Ces derniers étaient groupés entre 8 et 13 par photophore, ce qui correspond à ce qui est habituellement observé chez les Etmopteridae qui en possèdent en moyenne entre 6 et 14 (Claes et Mallefet, 2009a; Renwart et al., 2014). La dernière hypothèse (et la plus probable) expliquant la différence de mesure des diamètres des photophores de *D. licha* entre cette étude et celle de Mallefet et al. (2021) est l'absence de cellules de lentille au sommet des photophores qui avaient pourtant été décrites lors de leur étude.

La contre-illumination, une fonction qui serait majoritaire chez les requins lumineux (Claes et Mallefet, 2009a), nécessite que l'émission lumineuse puisse voir son orientation et ses

caractéristiques spectrales modulées pour correspondre à la lumière ambiante des océans. Pour ce faire, les poissons osseux possèdent des structures accessoires dans leur photophore, comme des filtres pigmentaires et des réflecteurs (Denton *et al.*, 1970, 1985 ; Herring, 2000). Ces structures étaient pensées absentes chez les requins lumineux (Claes *et al.*, 2010) jusqu'à ce que Renwart *et al.* (2014) découvrent la présence d'une couche réticulaire servant de réflecteur chez *E. spinax*. L'observation des photophores de *D. licha* au TEM n'a pas révélé la présence d'une couche réticulaire contrairement aux photophores d'*E. spinax* et d'*E. lucifer* observés ici, montrant en outre l'organisation plus simple du photophore des Dalatiidae comparés à celui des Etmopteridae (**Fig. 41**). Beaucoup d'organismes tels que des crustacés, céphalopodes et poissons osseux ont développé un réflecteur au sein de leur photophore et les composants biologiques de ces structures varient grandement (Herring, 2000). Il existe des réflecteurs à réflexion diffuse, composés d'un matériau granulaire ou de particules cristallines, et des réflecteurs à réflexion spéculaire, constitués de surfaces partiellement réfléchissantes organisées en plaquettes, cristaux ou fibres (Herring, 2000). Les cristaux de guanine ont un indice de réfraction haut et seraient le matériau principalement utilisé chez les poissons osseux utilisant la contre-illumination ; ils sont par exemple retrouvés chez les Myctophidae qui contiennent des cristaux de guanine au sein des iridophores constituant leur réflecteur bleu-vert (Herring, 2000; Paitio *et al.*, 2020). L'organisation spatiale et la morphologie de la couche réticulaire d'*E. spinax* font penser à un réflecteur : une matrice réticulée de boxes polygonales qui contiendraient des cristaux, probablement de guanine, avec des propriétés réfléchives (Denton, 1970; Renwart *et al.*, 2014). Cependant, l'étude de l'ultrastructure au TEM nécessite de l'acétate d'uranyle et du citrate de plomb pour la post-fixation des tissus et ces produits ont la propriété de solubiliser la guanine, qui n'a ainsi pas pu être observée ni par Renwart *et al.* (2014) ni dans la couche réticulaire d'*E. lucifer* observée ici. Cette dernière étant très similaire morphologiquement et structurellement à celle d'*E. spinax*, nous supposons également qu'elle devrait remplir le rôle de réflecteur. D'autres structures accessoires permettant également de définir l'orientation de la lumière peuvent constituer les photophores, une lentille pour améliorer la transmission de la lumière et une gaine pigmentaire constituée de mélanophores contenant des grains de mélanine pour protéger les tissus internes du corps des rayons d'émission lumineuse parasites (Denton *et al.*, 1970; Cavallero *et al.*, 2004; Paitio *et al.*, 2021). La description de l'ultrastructure d'*E. spinax*, en plus de la découverte d'un réflecteur, avait également permis la découverte de l'organisation très élaborée de sa lentille qui est composée de 1 à 2 cellules de forme convexe et associée à des cellules de type I et II dont le rôle exact n'a pas été élucidé (**Fig. 41**; Renwart *et al.*, 2014). Ici, contrairement à d'autres études décrivant

des cellules de lentille au sommet des photophores des Dalatiidae comme *Euprotomicrus bispinatus* (Hubbs, 1967), *Isitius brasiliensis* (Delroisse *et al.*, 2021a), *Squaliolus aliae* (Claes *et al.*, 2012) de même que la précédente étude de *D. licha* (Mallefet *et al.*, 2021), l'analyse ultrastructurale n'a révélé, tout comme les observations au microscope optique, aucune structure cellulaire correspondant à une lentille chez *D. licha*. Les coupes histologiques des photophores de *Z. squamulosus* (Somniosidae) n'avaient pas révélé non plus la présence d'une lentille (Duchatelet *et al.*, 2021a) ; l'absence de cette structure est supposée être compensée par le type d'agencement des écailles placoides en forme de feuilles alvéolaires, qui par leur forme et leur structure translucide, permettent une bonne transmission de la lumière du photocyte sans qu'il y ait besoin d'intervention d'autres structures complexes comme une lentille. Un agencement similaire en feuilles simples est présent au niveau du rostre de *D. licha* permettant également une bonne transmission de la lumière via la structure translucide de ces écailles placoides (Mallefet *et al.*, 2021). Cependant, les photophores étudiés dans ce mémoire proviennent de sections de peau ventrale et au niveau dorso-ventral c'est un agencement *pavement-like* de denticules dermiques qui y est retrouvé. D'autres espèces d'Etmopteridae et de Dalatiidae tel qu'*I. brasiliensis* présentant cet agencement possèdent également des cellules de lentille plus ou moins complexes en fonction des espèces (Reif, 1985; Mallefet *et al.*, 2021). Ainsi, les raisons de l'absence de cette structure accessoire dans les photophores de *D. licha* restent floues. L'analyse des coupes histologiques au TEM permet une étude plus fine des structures cellulaires ; les résultats de cette étude sont ainsi plus précis que ce qui a été établi précédemment et permettent de redéfinir plus précisément les composants cellulaires des photophores de *D. licha* : un photocyte unique entouré d'une gaine pigmentaire sans autre structure accessoire tels qu'une lentille ou un réflecteur. La morphologie de la gaine pigmentaire de *D. licha* composée de mélanophores entourant entièrement le photophore et ne laissant que le sommet du photophore ouvert vers l'extérieur durant l'émission lumineuse est peut-être un moyen suffisant pour définir la direction souhaitée de l'émission lumineuse en absorbant les directions lumineuses indésirables au sein de la gaine pigmentaire épaisse et ne nécessite donc pas de structure complexe. Du côté des photophores d'*E. lucifer*, faute d'un nombre suffisant de coupes, cette étude n'a pas pu décrire sa lentille mais, le photophore observé au TEM étant très similaire à celui d'*E. spinax*, une structure de même type devrait probablement s'y retrouver et la lentille avait par ailleurs déjà été observée en microscopie optique (Mallefet *et al.*, 2021).

Deux zonations apparaissent très distinctes au sein du photocyte de *D. licha*, l'une dénommée la zone granulaire et la seconde la zone vésiculaire (**Fig. 41**). La zone granulaire est claire aux électrons et contient des inclusions granulaires de formes diverses ainsi qu'une large sécrétion sphérique qui sont tous denses aux électrons. La zone vésiculaire contient le reste du cytoplasme dont certains organites tels que le réticulum endoplasmique, le noyau et des vésicules claires aux électrons. Curieusement, ces deux zones ne sont pas séparées d'une membrane. La zone granulaire est située à la base du photocyte, et donc du photophore, et les inclusions granulaires s'y trouvant seraient les mêmes microsources, nommées glowons, que celles identifiées chez *E. spinax* (Renwart *et al.*, 2014, 2015). Les micro-sources sont les sites au sein desquels se trouvent les réactifs nécessaires à la photogénèse (c.-à-d. un substrat de type luciférine catalysé par son enzyme (luciférase) ou un complexe enzyme-substrat assemblé en une photoprotéine ; Kaskova *et al.*, 2016; Delroisse *et al.*, 2017). La zone granulaire chez *E. spinax* est située dans la région apicale des photocytes et est ainsi orientée vers le centre du photophore ; orientation qui serait optimale pour l'émission lumineuse vers la lentille qui transmettra la lumière vers l'environnement extérieur (**Fig. 41**). Dans les photophores d'*E. lucifer*, une zonation en deux régions, une contenant les inclusions granulaires avec une large sécrétion et une contenant le reste du cytoplasme et le noyau, a également été observée. Ces inclusions granulaires sont donc supposées être les réactifs luminescents des requins lumineux, justifié par le fait que la zone granulaire est également le site présentant la plus grande auto-fluorescence au sein des photocytes d'*E. spinax* ; ces structures ont également montré des modifications morphologiques durant l'émission lumineuse comme expliqué ci-après (Claes et Mallefet, 2008; Renwart *et al.*, 2014, 2015). Au vu de l'organisation commune avec les photophores d'*E. spinax*, ou encore avec le photophore de *Z. squamulosus* (Duchatelet *et al.*, 2021b) qui a également montré de la fluorescence photocytaire (très vraisemblablement au niveau de la zone granulaire du photocyte), l'auto-fluorescence de cette zone chez *D. licha* est supposée mais n'a pas été testée dans le cadre de cette étude. Les glowons mesurent en moyenne 0,20  $\mu\text{m}$  chez *D. licha* en conditions contrôles, c'est-à-dire des photophores fermés sans traitement hormonal – les changements cytologiques se déroulant au niveau de ces structures sont repris ci-après et leurs diamètres varient en fonction des traitements hormonaux appliqués (de 0,35  $\mu\text{m}$  sous traitement MT et 0,24  $\mu\text{m}$  sous traitement  $\alpha$ -MSH) – et de 0,16  $\mu\text{m}$  chez *E. lucifer* mais ce résultat n'est pas significatif au vu du faible nombre de photophores observés ici. Les inclusions granulaires mesurés chez *E. spinax* sont plus larges, mesurant 0,38  $\mu\text{m}$  (Renwart *et al.*, 2014). A travers les autres phylums, certaines microsources décrites sont beaucoup plus grandes tels que les microcristaux en bâtonnets du calamar luciole *Watasenia scintillans* mesurant de 2 à 6  $\mu\text{m}$  de

long ou sont du même ordre de grandeur tels que les lumisomes de *Renilla reniformis* d'environ 0,2 µm (Anderson et Cormier, 1973; Hamanaka *et al.*, 2011). La majorité des microsources identifiées sont des structures entourées d'une membrane – ex. les photosomes des Annélides (Bassot et Nicolas, 1995), les lumisomes des Cnidaires (Anderson et Cormier, 1973) ou les scintillons des Dinoflagellés (Nicolas *et al.*, 1987) – tandis que les microsources retrouvés chez les requins lumineux, les inclusions granulaires ou glowons, retrouvés chez les espèces *E. spinax*, *D. licha* et *E. lucifer* sont des particules comprises au sein du cytoplasme et sans membrane les entourant (Renwart *et al.* 2014, 2015). Les microsources de *W. scintillans* ne présentent pas non plus de membrane (Hamanaka *et al.*, 2011).

Par ailleurs, une large sécrétion sphérique, acidophile et dense aux électrons est observée au sein de la zone granulaire du photocyte (**Fig. 41**). Etant située au sein du site de la réaction de luminescence et entourée des glowons, elle pourrait jouer un rôle dans la photogénèse. Les coupes cryostat de *D. licha* de Mallefet *et al.* (2021) avaient précédemment identifié une masse colorée interprétée comme correspondant aux photocytes. Des coupes au cryostat réalisées durant ce mémoire (résultats non présentés ici) présentaient également une masse colorée au sein du photocyte. L'analyse au TEM réalisée dans cette étude a révélé qu'il s'agissait en réalité d'une large sécrétion présente au sein du photocyte et pas d'une cellule en tant que telle. Les coupes au cryostat d'*I. brasiliensis* (Dalatiidae) montre également une masse colorée au sein du photocyte (Delroisse *et al.*, 2021a), laissant penser que l'analyse ultrastructurale de cette espèce présenterait donc cette même large sécrétion au sein de la zone granulaire du photocyte. Cette sécrétion avait déjà été décrite au sein des photocytes d'*Euprotomicrus bispinatus* (Dalatiidae) par Hubbs (1967) mais n'est pas uniquement retrouvée dans cette famille. En effet, malgré une absence de cette sécrétion chez *E. spinax*, l'analyse au TEM des photophores d'*E. lucifer* présentent également une large sécrétion au sein de leur zone dite granulaire.

Aucun symbiote bactérien n'a été observé au sein des photophores de *D. licha* et *E. lucifer* ce qui est en parallèle avec ce qui a été observé dans l'analyse ultrastructurale d'*E. spinax* et les précédentes études sur les photophores de ce dernier via l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) avec des sondes de bactéries bioluminescentes ainsi que l'analyse de l'apparition des capacités de bioluminescence durant son développement embryonnaire (Claes et Mallefet, 2008; Duchatelet *et al.*, 2019a, 2019c, 2021b), confirmant encore qu'ils produisent leur propre bioluminescence. Les organismes produisant leur propre luminescence sont dits bioluminescents intrinsèques tandis que d'autres organismes hébergent des bactéries symbiotiques qui produisent de la lumière pour eux et sont donc catégorisés de bioluminescents

extrinsèques. Ce phénomène est largement distribué phylogénétiquement chez les poissons osseux, tel que chez les poissons-phares de la famille des Anomalopidae abritant des bactéries dans leurs poches suborbitales ou chez les femelles des poissons Lophiiformes possédant des bactéries au sein de leur esca, bien que la majorité des poissons possèdent leurs propres systèmes et tissus photogéniques (Johnson et Rosenblatt, 1988; Haygood, 1993; Herring et Widder, 2001). De plus, des capillaires sanguins avec les globules rouges visibles ont été observés à proximité des photophores de *D. licha* et *E. lucifer*, pouvant être nécessaires pour le contrôle hormonal de leurs organes lumineux via la diffusion des hormones. Enfin, l'analyse des photophores au TEM n'a pas révélé la présence de terminaisons nerveuses au sein des photophores de *D. licha* et *E. lucifer*. La présence de nerfs au niveau des tissus entourant les photophores d'*E. spinax* a déjà été démontrée via immunoréactivité de type tubuline acétylée (Claes *et al.*, 2010b). Les Etmopteridae *E. spinax*, *E. splendidus*, *E. molleri* et le Dalatiidae *S. aliae* voient leur bioluminescence modulée par les neurotransmetteurs acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) et l'oxyde nitrique (NO), ainsi des terminaisons nerveuses sont très probablement présentes autour de leurs photophores. Nous supposons de même pour les photophores de *D. licha* et *E. lucifer* bien qu'encore aucune étude investiguant l'effet de neurotransmetteurs sur leur bioluminescence n'ait été réalisée jusqu'à présent (Claes *et al.*, 2011a, 2011b, 2012; Claes et Mallefet, 2009b, 2015).

## 4.2 Changements cytologiques durant l'émission lumineuse

Le contrôle de l'émission lumineuse des structures photogéniques développées par la grande diversité d'organismes bioluminescents peut se réaliser soit par contrôle mécanique, soit physiologique via des neurotransmetteurs ou des hormones. Par exemple, les poissons osseux contrôlent leur luminescence par voie nerveuse et utilisent des neurotransmetteurs tels que la noradrénaline, l'adrénaline ou l'oxyde nitrique (NO ; Krönström, 2009 ; Krönström et Mallefet, 2010; Mallefet *et al.*, 2019). Les requins lumineux s'avèrent être les seuls organismes à réguler leur émission lumineuse par voie hormonale. Diverses études sur les Dalatiidae et Etmopteridae ont montré que l'émission lumineuse de ces deux familles est stimulée par la mélatonine (MT) et inhibée par les hormones de la famille des mélanocortines : l'hormone stimulant les  $\alpha$ -mélanocytes ( $\alpha$ -MSH) et l'hormone adrénocorticotrope (ACTH; Duchatelet *et al.*, 2020b, 2021b). Le contrôle de l'émission lumineuse de *D. licha* a été investigué par Mallefet *et al.* (2021) et montre le même type de contrôle. L'hormone prolactine (PRL) a, elle, un effet inhibiteur sur l'émission lumineuse des Dalatiidae (chez *S. aliae*) et stimulateur chez les Etmopteridae (Claes et Mallefet, 2009b; Claes *et al.*, 2012).

Dans ce mémoire, l'accent a été mis sur les hormones MT et  $\alpha$ -MSH pour évaluer les changements morphologiques se déroulant au sein des photophores de *D. licha* durant la stimulation et l'inhibition de l'émission lumineuse. Récemment, la localisation des récepteurs aux hormones MT (MTNR) et  $\alpha$ -MSH/ACTH (MCR) d'*E. spinax* et *E. molleri* a montré qu'ils étaient localisés au niveau des cellules de l'ILS, des cellules de la lentille ainsi qu'un niveau du photocyte (Duchatelet *et al.*, 2020a). L'ACTH n'a pas été analysée dans ce mémoire, une prochaine étude devrait investiguer si des changements ultrastructuraux différents de l'inhibition par l' $\alpha$ -MSH a lieu au niveau des photocytes et de l'ILS. L'effet de l'hormone PRL n'a pas non plus été analysé dans cette étude ultrastructurale car son influence sur la luminescence de *D. licha* n'a pas encore été investigué et la localisation et l'expression des récepteurs de la PRL (PRLR) n'ont pas été détectés dans les photophores d'*E. spinax* et *E. molleri* dans l'étude de Duchatelet *et al.* (2020a). Ces résultats sont en accord avec l'étude de Daza et Larhammar (2018) montrant que les récepteurs PRLR ont été perdus chez les poissons cartilagineux en analysant l'évolution des récepteurs de cytokines de classe I dont ils font partie.

Via l'analyse des photophores de *D. licha* au TEM, les traitements hormonaux par la MT et par l' $\alpha$ -MSH ont tous deux montré des modifications morphologiques significatives au niveau de la zone granulaire et de la zone vésiculaire des photocytes ainsi qu'au sein de la couche pigmentaire.

Au sein du photocyte de *D. licha*, les zones granulaire et vésiculaire ont vu des changements cytoplogiques se produire sous l'action des deux différents traitements hormonaux. Au niveau de la zone granulaire, les inclusions granulaires (ou glowons) subissent des modifications morphologiques distinctes sous MT et sous  $\alpha$ -MSH. Durant l'émission lumineuse, la couverture des glowons augmente et ils remplissent ainsi presque entièrement la zone granulaire en ne laissant que très peu de lumière visible. La couverture des glowons sous MT est significativement plus élevée que celle observée après inhibition de la luminescence par l' $\alpha$ -MSH. Les diamètres des glowons augmentent également durant l'émission lumineuse (0,35  $\mu$ m sous traitement MT et 0,24  $\mu$ m sous traitement  $\alpha$ -MSH), ces inclusions granulaires s'agrégeant donc potentiellement entre elles, et dont le nombre augmente également au vu de la plus grande couverture de la zone granulaire. Ainsi, sous traitement  $\alpha$ -MSH la couverture et le diamètre des glowons étaient moins importants. En plus des observations d'auto-fluorescence au sein du photocyte réalisées chez plusieurs espèces (Claes et Mallefet, 2009a; Renwart *et al.*, 2014; Duchatelet *et al.*, 2021b), les changements cytologiques se déroulant dans la zone granulaire supporte encore l'hypothèse qu'elle serait le site d'émission lumineuse et qu'elle contiendrait

les réactifs luminescents, les glowons. Chez *E. spinax*, un traitement à la mélatonine a également montré une agrégation des glowons au sein de la zone granulaire mais le phénomène d'augmentation de la couverture n'a pas été observé, cette zone laissait au contraire transparaître plus de lumière au TEM (Renwart *et al.*, 2015). Un traitement à la PRL mené sur les photophores d'*E. spinax* a permis l'observation de la formation de particules grises entre les inclusions granulaires (Renwart *et al.*, 2015). Ce phénomène n'a pas été observé chez *D. licha* durant l'émission lumineuse ou l'inhibition de cette dernière, uniquement les photophores contrôles semblaient présenter des structures pouvant correspondre à ces particules grises. De plus amples études à ce propos sont nécessaires mais Renwart *et al.* (2015) émettaient l'hypothèse que les particules grises seraient des composants de la voie métabolique intracellulaire de la réaction de luminescence et que les glowons constitueraient des complexes de réactifs luminescents (un substrat ou une photoprotéine) qui attendent un stimulus, potentiellement lié à ces particules grises, pour déclencher la réaction de luminescence. Du côté de la zone vésiculaire, des changements cytologiques sont également observés et montrent potentiellement une forte activité cellulaire durant la stimulation et l'inhibition de l'émission lumineuse. En effet, sur les coupes MT et MSH, le réticulum endoplasmique rugueux (RER) apparaît assez développé avec des citernes apparaissant dilatées. Cela pourrait être liée à l'accumulation de protéines synthétisées pour la photogenèse (ex. luciférase). Le RER était également bien visible sur les coupes d'*E. spinax* à proximité des inclusions granulaires (Renwart *et al.*, 2015). Bien qu'aucun traitement hormonal n'ait été appliqué sur les photophores d'*E. lucifer*, ses photophores présentaient également un RER développé et nettement observable. D'autres études analysant l'ultrastructure de différents organismes durant l'émission lumineuse montrent une potentielle implication du RER dans la photogenèse, tel qu'*Amphipholis squamata* (Deheyn, 2000), le céphalopode *Histioteuthis bonnellii* (Cavallaro *et al.*, 2016) ou les poissons *Argyrolepecus hemigymnus*, *Maurolicus muelleri* et *Cyclothone braueri* (Cavallaro *et al.*, 2004, 2015). Autour de leur RER développé, la présence de nombreux de larges vacuoles et des granules sécrétoires de forme et taille variées ont été observés chez ces organismes. Cela pourrait traduire une activité intense de biosynthèse protéique, potentiellement du substrat nécessaire à la production de lumière (Cavallaro *et al.*, 2004, 2015, 2016). Des vésicules transparentes aux électrons, potentiellement de sécrétion du RER, ont également été observées au sein de la zone vésiculaire de *D. licha* durant la production de lumière ainsi que durant son inhibition. Ces vésicules semblent contenir du matériel correspondant aux glowons ; elles pourraient potentiellement être impliquées dans leur transport à travers la cellule jusque dans la zone granulaire. Durant l'émission lumineuse, le

cytoplasme apparait plus dense aux électrons que durant l'inhibition. Cela pourrait également montrer un signe de synthèse de réactifs pour la photogenèse. La morphologie du photophore sous l'effet inhibiteur d' $\alpha$ -MSH semble être dans un état transitoire entre un photophore stimulé via la mélatonine et un photophore contrôle, retournant vers un état de photophore fermé sans réaction chimique lumineuse. Chez *E. spinax* de larges vésicules de formes variables sont présentes et seraient également impliquées dans l'émission lumineuse, via le stockage ou le relargage de composés luminescents (Renwart *et al.*, 2014). Ces éléments appuient pour une production putative des réactifs bioluminescents chez les requins lumineux. Inversement, beaucoup d'organismes se procurent leur substrat luminescent via l'alimentation, tels que les Myctophidés qui obtiennent la coelentérazine via la chaîne alimentaire et la stocke ensuite dans leurs tissus (Duchatelet *et al.*, 2019d). La biosynthèse de substrats lumineux propres a également été observée chez des organismes tels que les cténophores ou chez un copépode qui produisent leur coelentérazine (Oba *et al.*, 2009; Bessho-Uehara *et al.*, 2020). La luciférine est très conservée à travers les phylums faisant que plusieurs organismes marins non-apparentés taxonomiquement utilisent les mêmes luciférines (Haddock *et al.*, 2010; Herring, 1977). La nature des composants (enzymes, substrats ou photoprotéines) utilisés dans le système bioluminescent des requins est encore largement inconnue (Duchatelet *et al.*, 2021a, 2021b) et jusqu'à présent la luciférine des Dinoflagellés, la varguline et la coelentérazine n'ont pas été détectés chez *Etmopterus spinax* (Renwart et Mallefet, 2013). La coelentérazine est la luciférine la plus largement utilisée dans les milieux marins (Fleiss et Sarkisyan, 2019) et Renwart (2014) remet en cause la méthodologie qui a été utilisée pour extraire les microsources d'*E. spinax* car leur structure en inclusions granulaires sans membrane n'était pas encore connue et une autre étude contradictoire plus récente aurait trouvé que la coelentérazine serait finalement le substrat utilisé chez les requins lumineux (Mizuno *et al.*, 2021). Cependant, les glowons peuvent également être de nouvelles molécules uniques de toute autre nature. Plus d'investigations sont nécessaires quant à la nature chimique de ces inclusions granulaires.

En condition contrôle, sans traitement hormonal, la gaine pigmentaire constituée de mélanophores englobe entièrement le photocyte en formant ainsi une sphère tout autour de lui et constituant ensemble le photophore (**Fig. 41**). Les photophores sous traitement hormonal mélatonine présentent une couche pigmentaire ouverte au niveau de la zone apicale du photocyte tandis qu'elle retrouve une forme sphérique et fermée sous traitement  $\alpha$ -MSH. Ce mouvement d'ouverture et de fermeture du photophore est régi par les mélanophores constituant l'ILS. Contrairement au photophore d'*E. spinax*, qui possède des cellules

pigmentées plates au niveau de la couche pigmentaire située à la base du photophore et des cellules pigmentées dendritiques qui constituent l'ILS et entourent les nombreux photocytes (**Fig. 41** ; Renwart *et al.*, 2014), l'ILS et la gaine pigmentaire de *D. licha* ne formeraient donc qu'une seule structure avec les mêmes mélanophores assurant les deux rôles de ces structures accessoires. Ainsi, cette étude met en évidence la présence de la structure ressemblant à l'iris (ILS, *iris like structure*) qui ferait partie intégrante de la gaine pigmentaire. La rétraction ou la dispersion des pigments dans les projections de type pseudopodes des cellules pigmentées associées à l'ILS est un mécanisme clé pour contrôler l'intensité de la lumière émise et avait déjà été montré chez plusieurs espèces de requins lumineux – *S. aliae* (Claes *et al.*, 2012), *E. splendidus* (Claes *et al.*, 2011a), *E. molleri* (Claes et Mallefet, 2015), *E. lucifer* et *E. granulatus* (Mallefet *et al.*, 2021). Les pigments des mélanophores seraient des grains de mélanine rassemblés en mélanosome (Weismeier *et al.*, 2008). En résumé, les pigments des mélanophores se rétracteraient sous l'action de la mélatonine permettant une ouverture au sommet du photophore pour que la lumière puisse atteindre l'environnement extérieur tandis que le traitement à l' $\alpha$ -MSH engendre une dispersion des pigments au sein des projections cytoplasmiques des mélanophores, la couche pigmentaire reprenant sa forme sphérique fermée qui était initialement retrouvée chez les photophores contrôlés.

### 4.3 Acquisition de la bioluminescence chez les requins lumineux

L'organisation des photophores des deux familles présentent plusieurs similitudes : un ILS, une gaine pigmentaire, un photocyte unique (Dalatiidae) ou plusieurs photocytes (Etmopteridae) régionalisés en une zone granulaire et une zone vésiculaire qui changent morphologiquement sous la stimulation par la MT pour les deux familles et également sous stimulation PRL pour *E. spinax* et sous inhibition  $\alpha$ -MSH pour *D. licha*. Ce dernier possède un photophore plus simple en termes de composition cellulaire, possédant moins de structures complexes tel que le réflecteur ou la lentille présents chez *E. spinax*. Entre Etmopteridae et entre Dalatiidae, la structure des photophores est bien conservée. Par ailleurs, les hormones MT,  $\alpha$ -MSH étudiées ici, ainsi que la PRL et l'ACTH sont impliquées dans le mouvement des pigments associés aux mélanophores des élastranchés permettant la modulation physiologique de la couleur de la peau. La PRL, l'ACTH et l' $\alpha$  MSH assombrissent la peau en régulant la dispersion des pigments des mélanophores et la MT induit l'agrégation des pigments des mélanophores, la peau devenant plus pâle (Visconti *et al.*, 1999; Duchatelet *et al.* 2020b, 2021b; Mallefet *et al.*, 2021). Ce mécanisme de mouvement des pigments cutanés via contrôle hormonal aurait ainsi été coopté et évolué avec l'acquisition du trait de la bioluminescence chez

l'ancêtre commun des requins lumineux pour réguler l'ILS des photophores (Mallefet *et al.*, 2021). Malgré l'organisation plus simple des photophores des Dalatiidae, l'action des hormones est conservée en semblant agir de manière similaire au sein du photophore des deux familles. L'homologie dans l'organisation et le contrôle des photophores entre Etmopteridae et Dalatiidae montre que ces familles de requins partageraient un ancêtre commun lumineux et qu'il ne s'agit pas d'évolution convergente de la bioluminescence comme cela était pensé auparavant (Claes et Mallefet, 2009a; Straube *et al.*, 2010). Ainsi, les photophores plus complexes des Etmopteridae dériveraient des photophores plus simples de l'ancêtre commun des requins lumineux, dont les photophores étaient présumés semblables à ceux retrouvés chez les Dalatiidae. Un autre élément soutenant cette hypothèse est que durant l'embryogenèse d'*E. spinax*, les photophores en développement ne présentent au début qu'un unique photocyte en leur sein (Claes et Mallefet, 2008; Claes *et al.*, 2012, 2010b). Les Dalatiidae seraient les premiers requins lumineux à avoir radié des autres Squaliformes durant le Crétacé Supérieur (il y a 65-105 millions d'années), suivi des Etmopteridae (65-90 millions d'années) puis des Somniosidae (24-64 millions d'années; Straube *et al.*, 2015). La bioluminescence serait apparue chez les Dalatiidae lorsqu'ils ont investi les eaux pélagiques après l'extinction du Crétacé-Paléogène tandis que les Etmopteridae auraient complexifiés ces organes lumineux lorsqu'ils ont colonisé les eaux profondes (Claes *et al.*, 2012; Straube *et al.*, 2010, 2015). Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle le trait de la bioluminescence n'aurait évolué qu'une fois au sein des requins lumineux, les trois familles possédant le même ancêtre commun luminescent avec des photophores de type Dalatiidae contrôlés par voie hormonale dans un but de camouflage par contre-illumination – cette fonction étant considérée comme la plus basique chez les requins lumineux (Straube *et al.*, 2015).

## 5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

En conclusion, ce mémoire a permis de décrire l'ultrastructure des photophores de *D. licha* ainsi que les changements morphologiques survenant après une stimulation hormonale par la mélatonine, connue pour déclencher l'émission de lumière, et l' $\alpha$ -MSH, un inhibiteur de l'émission lumineuse. Ces résultats ont été comparés avec l'ultrastructure connue d'*Etmopterus spinax* et permettent ainsi de remarquer les homologues et différences entre leurs organes lumineux. Cette étude offre également une première description de l'ultrastructure d'un second Etmopteridae, *E. lucifer*, mais de manière moins approfondie due à l'observation d'une quantité moins conséquente de photophores. Ainsi, cette étude apporte de nouvelles pistes pour éclaircir le processus intracellulaire d'émission lumineuse de *D. licha* et, plus largement, des requins lumineux. Elle permet également de supporter l'hypothèse selon laquelle il y a une conservation évolutive de la morphologie et du contrôle des photophores et que la bioluminescence est le fruit d'un événement évolutif unique chez les requins lumineux. La bioluminescence aurait ainsi été acquise chez un ancêtre commun des trois familles (Dalatiidae, Etmopteridae, Somniosidae).

Les photophores sont sphériques et situés dans l'épiderme. Ils sont composés d'une structure en forme d'iris (ILS) associée à une gaine pigmentaire sphérique englobant entièrement une unique cellule émettrice de lumière, le photocyte, dont l'organisation intracellulaire apparaît très régionalisée. A la base du photocyte se trouve la zone granulaire remplie d'inclusions granulaires semblant correspondre aux glowons, les microsources décrites chez *E. spinax*. Cette zone pourrait être le site intracellulaire de l'émission de lumière. Une large sécrétion acidophile et dense aux électrons est également observée. Elle est située au sein de la zone granulaire, se retrouvant entourée de glowons et pourrait donc être impliquée dans la photogénèse. Aucune cellule de lentille ou de couche réticulaire n'ont été observées au TEM contrairement au photophore des Etmopteridae, montrant l'organisation plus simple du photophore des Dalatiidae.

Les traitements hormonaux à la mélatonine et à l' $\alpha$ -MSH ont engendré des changements cytologiques différents au sein des photophores. Une stimulation de l'émission lumineuse par la mélatonine montre un retrait des pigments des mélanophores associés à l'ILS au sommet du photophore. Au sein de la zone granulaire on observe une augmentation du diamètre et de la couverture des inclusions granulaires, confirmant encore que cette zone granulaire serait le site potentiel d'émission de lumière. A l'inverse, l'inhibition de la photogénèse par l' $\alpha$ -MSH

provoque la dispersion des pigments des mélanophores vers le sommet du photophore et une diminution du diamètre et de la couverture des inclusions granulaires.

Pour mener une étude plus complète des changements morphologiques de *D. licha* se déroulant durant l'émission lumineuse, une étude de l'ultrastructure des photophores sous traitement ACTH pourrait être réalisée et l'auto-fluorescence de la zone granulaire pourrait également être confirmée. D'autres aspects permettraient également d'améliorer la compréhension du contrôle de l'émission lumineuse de *D. licha* tels que l'étude de la localisation des récepteurs à hormones responsables du contrôle de l'émission lumineuse, de l'effet de neurotransmetteurs sur sa luminescence ou encore, du phénomène potentiel de couplage fonctionnel entre photoémission et photoréception au sein des photophores comme cela a été montré chez *E. spinax*.

De futures études sur l'ultrastructure d'autres espèces de Dalatiidae, Etmopteridae et Somniosidae devraient se poursuivre pour analyser les similarités et différences de l'organisation de l'organe lumineux entre les familles afin de recomposer le puzzle de l'évolution de la bioluminescence chez les requins lumineux. A présent, un modèle d'organisation ultrastructurale est disponible pour les Dalatiidae et Etmopteridae, l'accent devrait donc être mis sur les Somniosidae (*Z. squamulosus*, la seule espèce lumineuse connue). Également, l'ultrastructure d'*E. lucifer* devrait être approfondie avec l'application de traitements hormonaux. L'étude d'autres Dalatiidae pourrait également être envisageable tels que *S. aliae* dont le contrôle hormonal ainsi que nerveux et photoréceptif de ses photophores est connu ou encore *I. brasiliensis* pour la sécrétion qu'il semble aussi présenter au sein de ses photocytes.

La microscopie électronique à transmission (TEM) possède un grand pouvoir de grossissement et une grande résolution optique, environ 200 fois plus grande qu'en microscopie optique (Young, 2015), et offre ainsi de nouveaux éléments de compréhension au processus de bioluminescence à l'échelle intracellulaire. C'est une technique bien adaptée pour mener une étude des photophores des requins lumineux qui sont des petites structures de 50 à 150 µm maximum en fonction des familles et permet une investigation fine des structures intracellulaires présentes. Cependant, les potentiels artefacts et les altérations des tissus que peuvent engendrer les produits utilisés pour la préparation des échantillons durant la fixation, la post-fixation, l'enrobage ou encore le contrastage des coupes sont sans doute une limitation majeure du TEM. Le glutaraldéhyde et le tétroxyde d'osmium peuvent par exemple altérer les

protéines ou dissoudre les lipides ; des pertes de matériel, ainsi que d'informations histologiques, sont donc engendrées dans les tissus (Hopwood, 1969). Aussi, l'aire d'observation disponible sur le maillage des grilles est très petite et demande ainsi une grande reproductivité de coupes pour réussir à obtenir plusieurs répliqués de photophores en entier.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Ancil, M. 1977. « Development of bioluminescence and photophores in the midshipman fish, *Porichthys notatus* ». *J. Morphol.* 151(3): 363-95. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051510305>.
- Ancil, M. 1985. « Cholinergic and monoaminergic mechanisms associated with control of bioluminescence in the ctenophore ». *J. Exp. Biol.* 119(1): 225-38. <https://doi.org/10.1242/jeb.119.1.225>
- Anderson, J. M., et M. J. Cormier. 1973. « Lumisomes, the cellular site of bioluminescence in coelenterates ». *J. Biol. Chem.* 248(8): 2937-43. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)44098-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)44098-2)
- Bassot, J.-M., et M. T. Nicolas. 1995. « Bioluminescence in scale-worm photosomes: the photoprotein polynoidin is specific for the detection of superoxide radicals ». *Histochem. Cell Biol.* 104(3): 199-210. <https://doi.org/10.1007/BF01835153>.
- Bassot, J.-M. 1966. « On the comparative morphology of some luminous organs ». In *On the comparative morphology of some luminous organs*, 557-610. Princeton University Press. <https://doi.org/10.1515/9781400875689-035>.
- Bernal, D., J. M. Donley, R. E. Shadwick, et D. A. Syme. 2005. « Mammal-like muscles power swimming in a cold-water shark ». *Nature* 437(7063): 1349-52. <https://doi.org/10.1038/nature04007>.
- Bessho-Uehara, M., W. Huang, W. L. Patry, W. E. Browne, J.-K. Weng, et S. H. D. Haddock. 2020. « Evidence for *de novo* biosynthesis of the luminous substrate coelenterazine in Ctenophores ». *IScience* 23(12): 101859. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101859>.
- Campbell, A. K., et P. J. Herring. 1987. « A novel red fluorescent protein from the deep sea luminous fish *Malacosteus niger* ». *Comp. Biochem. Physiol. B* 86(2): 411-17. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(87\)90314-2](https://doi.org/10.1016/0305-0491(87)90314-2).
- Carvalho, M., L. J. V. Compagno, et D. Ebert. 2003. « *Benthobatis yangi*, a new species of blind electric ray from Taiwan (Chondrichthyes: Torpediniformes: Narcinidae) ». *Bull. Mar. Sci.* 7: 923-39.
- Cavallaro, M., C. L. Mammola, et R. Verdiglione. 2004. « Structural and ultrastructural comparison of photophores of two species of deep-sea fishes: *Argyropelecus hemigymnus* and *Maurolicus muelleri* ». *J. Fish Biol.* 64(6): 1552-67. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00410.x>.

- Cavallaro, M., P. Battaglia, R. Laurà, M. C. Guerrero, F. Abbate, et A. Germanà. 2015. « The morphology of photophores in the garrick, *Cyclothone braueri* (family: Gonostomatidae): an ultrastructure study ». *Acta Zoologica* 96 (3): 296-300. <https://doi.org/10.1111/azo.12076>.
- Cavallaro, M., P. Battaglia, M. C. Guerrero, F. Abbate, M. Levanti, F. Andaloro, A. Germanà, et R. Laurà. 2016. « New data on morphology and ultrastructure of skin photophores in the deep-sea squid *Histioteuthis bonnellii* (Férussac, 1834), Cephalopoda: Histioteuthidae ». *Acta Zoologica* 98(3): 271-77. <https://doi.org/10.1111/azo.12174>.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2008. « Early development of bioluminescence suggests camouflage by counter-illumination in the velvet belly lantern shark *Etmopterus spinax* (Squaloidea: Etmopteridae) ». *J. Fish Biol.* 73(6): 1337-50. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02006.x>.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2009a. « Bioluminescence of sharks: First synthesis ». In *Bioluminescence in Focus-A Collection of Illuminating Essays*, 51-65.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2009b. « Hormonal control of luminescence from lantern shark (*Etmopterus spinax*) photophores ». *J. Exp. Biol.* 212(22): 3684-92. <https://doi.org/10.1242/jeb.034363>.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2009c. « Ontogeny of photophore pattern in the velvet belly lantern shark, *Etmopterus spinax* ». *Zoology* 112(6): 433-41. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2009.02.003>.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2010. « Functional physiology of lantern shark (*Etmopterus spinax*) luminescent pattern: Differential hormonal regulation of luminous zones ». *J. Exp. Biol.* 213(11): 1852-58. <https://doi.org/10.1242/jeb.041947>.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2014. « Ecological functions of shark luminescence ». *Luminescence* 29: 13-15.
- Claes, J. M., et J. Mallefet. 2015. « Comparative control of luminescence in sharks: new insights from the slendertail lanternshark (*Etmopterus molleri*) ». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 467: 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.03.008>.
- Claes, J. M., A. D. L. Aksnes, et J. Mallefet. 2010a. « Phantom hunter of the fjords: camouflage by counterillumination in a shark (*Etmopterus spinax*) ». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1-2(388): 28-32. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2010.03.009>.
- Claes, J. M., J Krönström, S. Holmgren, et J. Mallefet. 2010b. « Nitric oxide in the control of luminescence from lantern shark (*Etmopterus spinax*) photophores ». *J. Exp. Biol.* 213(17): 3005-11. <https://doi.org/10.1242/jeb.040410>.

- Claes, J. M., K. Sato, et J. Mallefet. 2011a. « Morphology and control of photogenic structures in a rare dwarf pelagic lantern shark (*Etmopterus splendidus*) ». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 406(1-2): 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.05.033>.
- Claes, J. M., J Krönström, S. Holmgren, et J. Mallefet. 2011b. « GABA inhibition of luminescence from lantern shark (*Etmopterus spinax*) photophores ». *Comp. Biochem. Physiol. C* 153 (2): 231-36. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.11.002>.
- Claes, J. M., H.-C. Ho, et J. Mallefet. 2012. « Control of luminescence from pygmy shark (*Squaliolus aliae*) photophores ». *J. Exp. Biol.* 215(10): 1691-99. <https://doi.org/10.1242/jeb.066704>.
- Claes, J. M., D.-E. Nilsson, N. Straube, S. P. Collin, et J. Mallefet. 2014. « Iso-luminance counterillumination drove bioluminescent shark radiation ». *Sci. Rep.* 4(1): 4328. <https://doi.org/10.1038/srep04328>.
- Claes, J. M., D-E. Nilsson, J. Mallefet, et N. Straube. 2015. « The presence of lateral photophores correlates with increased speciation in deep-sea bioluminescent sharks ». *R. Soc. Open Sci.* 2(7): 150219. <https://doi.org/10.1098/rsos.150219>.
- Claes, J. M., J. Delroisse, M. A. Grace, M. H. Doozey, L. Duchatelet, et J. Mallefet. 2020. « Histological evidence for secretory bioluminescence from pectoral pockets of the American pocket shark (*Mollisquama Mississippiensis*) ». *Sci. Rep.* 10(1): 18762. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75656-8>.
- Compagno, L. J. V. 1984. *FAO Species Catalogue. Vol. 4. Sharks of the World. An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 1. Hexanchiformes to Lamniformes.* FAO Synopsis Sur Les Pêches 125. Rome, Italy: FAO. <https://www.fao.org/publications/card/fr/c/97b62c37-708e-5857-b79b-ea66872a9b56/>.
- Davis, M. P., N. I. Holcroft, E.O. Wiley, J. S. Sparks, et W. L. Smith. 2014. « Species-specific bioluminescence facilitates speciation in the deep sea ». *Mar. Biol.* 161(5): 1139-48. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2406-x>.
- Deheyn, D., J. Mallefet, et M. Jangoux. 2000. « Cytological changes during bioluminescence production in dissociated photocytes from the ophiuroid *Amphipholis squamata* (Echinodermata) ». *Cell Tissue Res.* 299(1): 115-28. <https://doi.org/10.1007/s004419900144>.
- Delroisse, J., E. Ullrich-Lüter, S. Blaue, I. Eeckhaut, P. Flammang, et J. Mallefet. 2017. « Fine structure of the luminous spines and luciferase detection in the brittle star *Amphiura filiformis* ». *Zoologischer Anzeiger* 269: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2017.05.001>.
- Delroisse, J, L. Duchatelet, P. Flammang, et J. Mallefet. 2018. « *De novo* transcriptome analyses provide insights into opsin-based photoreception in the lanternshark *Etmopterus spinax* ». *PLoS ONE* 13(12): e0209767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209767>.

- Delroisse, J, L. Duchatelet, P. Flammang, et J. Mallefet. 2021a. « Photophore distribution and enzymatic diversity within the photogenic integument of the cookie-cutter shark *Isistius brasiliensis* (Chondrichthyes: Dalatiidae) ». *Front. Mar. Sci.* 8: 627045. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.627045>.
- Delroisse, J, L. Duchatelet, P. Flammang, et J. Mallefet. 2021b. « Leaving the dark side? Insights into the evolution of luciferases ». *Front. Mar. Sci.* 8: 673620. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.673620>
- Denton, E. J. 1970. « Review lecture: on the organization of reflecting surfaces in some marine animals ». *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 258(824): 285-313. <https://doi.org/10.1098/rstb.1970.0037>.
- Denton, E. J., P. J. Herring, E. A. Widder, M. F. Latz, et J. F. Case. 1985. « The roles of filters in the photophores of oceanic animals and their relation to vision in the oceanic environment ». *Proc. R. Soc. Lond. B* 225(1238): 63-97. <https://doi.org/10.1098/rspb.1985.0051>.
- De Sa, R., et J. W. Hastings. 1968. « The characterization of scintillons ». *J. Gen. Physiol.* 51(1): 105-22.
- Duchatelet, L., J. Delroisse, P. Flammang, J. Mahillon, et J. Mallefet. 2019a. « *Etmopterus spinax*, the velvet belly lanternshark, does not use bacterial luminescence ». *Acta Histochem.* 121(4): 516-21. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.04.010>.
- Duchatelet, L., N. Pinte, T. Tomita, K. Sato, et J. Mallefet. 2019b. « Etmopteridae bioluminescence: dorsal pattern specificity and aposematic use ». *Zool. Lett.* 5: 9. <https://doi.org/10.1186/s40851-019-0126-2>.
- Duchatelet, L., J. M. Claes, et J. Mallefet. 2019c. « Embryonic expression of encephalopsin supports bioluminescence perception in lanternshark photophores ». *Mar. Biol.* 166:1. <https://doi.org/10.1007/s00227-019-3473-9>.
- Duchatelet, L., C. Hermans, G. Duhamel, Y. Cherel, C. Guinet, et J. Mallefet. 2019d. *Détection de la coelentérazine chez cinq espèces de Myctophidae du plateau des Iles Kerguelen, Coelenterazine detection in five myctophid species from the Kerguelen Plateau*. In Second Kerguelen Plateau Symposium on Marine Ecosystems and Fisheries. November 2017, Hobart, Tasmania.
- Duchatelet, L, J. Delroisse, et J. Mallefet. 2020a. « Bioluminescence in lanternsharks: insight from hormone receptor localization ». *Gen. Comp. Endocrinol.* 294: 113488. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113488>.

- Duchatelet, L., J. Delroisse, N. Pinte, K. Sato, H.-C. Ho, et J. Mallefet. 2020b. « Adrenocorticotrophic hormone and cyclic adenosine monophosphate are involved in the control of shark bioluminescence ». *Photochem. Photobiol.* 96(1): 37-45. <https://doi.org/10.1111/php.13154>.
- Duchatelet, L., T. Sugihara, J. Delroisse, M. Koyanagi, R. Rezsöházy, A. Terakita, et J. Mallefet. 2020c. « From extraocular photoreception to pigment movement regulation: a new control mechanism of the lanternshark luminescence ». *Sci. Rep.* 10(1): 10195. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67287-w>.
- Duchatelet, L., R. Marion, et J. Mallefet. 2021a. « A third luminous shark family: confirmation of luminescence ability for *Zameus squamulosus* (Squaliformes; Somniosidae) ». *Photochem. Photobiol.* 97(4): 739-44. <https://doi.org/10.1111/php.13393>.
- Duchatelet, L., J. M. Claes, J. Delroisse, P. Flammang, et J. Mallefet. 2021b. « Glow on sharks: state of the art on bioluminescence research ». *Oceans* 2(4): 822-42. <https://doi.org/10.3390/oceans2040047>.
- Dunlap, J. C., J. W. Hastings, et O. Shimomura. 1981. « Dinoflagellate luciferin is structurally related to chlorophyll ». *FEBS Lett.* 135(2): 273-76. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(81\)80799-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(81)80799-5).
- Dupont, S., J. Mallefet, et C. Vanderlinden. 2004. « Effect of  $\beta$ -adrenergic antagonists on bioluminescence control in three species of brittlestars (Echinodermata: Ophiuroidea) ». *Comp. Biochem. Physiol. C* 138(1): 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.04.007>.
- Finucci, B., R. H. L. Walls, J. Guallart, et P. M. Kyne. 2018. *Dalatias licha*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T6229A3111662. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T6229A3111662.en>
- Fleiss, A., et K. Sarkisyan. 2019. « A brief review of bioluminescent systems (2019) ». *Curr. Genet.* 65: 877-82. <https://doi.org/10.1007/s00294-019-00951-5>.
- Fujii, Ryoza, Hoshitsugu Wakatabi, et Noriko Oshima. 1991. « Inositol 1,4,5-Trisphosphate Signals the Motile Response of Fish Chromatophores—I. Aggregation of Pigment in the Tilapia Melanophore ». *Journal of Experimental Zoology* 259 (1): 9-17. <https://doi.org/10.1002/jez.1402590103>.
- Gouveneaux, A., et J. Mallefet. 2013. « Physiological control of bioluminescence in a deep-sea planktonic worm, *Tomopteris helgolandica* ». *J. Exp. Biol.* 216: 4285-89. <https://doi.org/10.1242/jeb.090852>.

- Grober, M. S. 1988. « Brittle-star bioluminescence functions as an aposematic signal to deter crustacean predators ». *Animal Behav.* 36(2): 493-501. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(88\)80020-4](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80020-4).
- Haddock, S.H.D., M. A. Moline, et J. F. Case. 2010. « Bioluminescence in the sea ». *Annu. Rev. Mar. Sci.* 2(1): 443-93. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120308-081028>.
- Hamanaka, T., M. Michinomae, M. Seidou, K. Miura, K. Inoue, et Y. Kito. 2011. « Luciferase activity of the intracellular microcrystal of the firefly squid, *Watasenia scintillans* ». *FEBS Lett.* 585(17): 2735-38. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.07.033>.
- Hastings, J. W. 2012. « Chapter 52 - Bioluminescence ». In *Cell Physiology Source Book (Fourth Edition)*, édité par Nicholas Sperelakis, 925-47. San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387738-3.00052-4>.
- Haygood, Margo G. 1993. « Light a organ symbioses in fishes ». *Crit. Rev. Microbiol.* 19(4): 191-216. <https://doi.org/10.3109/10408419309113529>.
- Hellinger, J., P. Jägers, M. Donner, F. Sutt, M. Mark, B. Senen, R. Tollrian, et S. Herlitze. 2017. « The flashlight fish *Anomalops katoptron* uses bioluminescent light to detect prey in the dark ». *PLoS ONE* 12: e0170489. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170489>.
- Herring, P. J. 1977. « Bioluminescence of marine organisms ». *Nature* 267(5614): 788-93. <https://doi.org/10.1038/267788a0>.
- Herring, Peter J., Malcolm R. Clarke, S. Von Boletzky, et K. P. Ryan. 1981. « The light organs of *Sepiolo atlantica* and *Spirula spirula* (Mollusca: Cephalopoda): Bacterial and intrinsic systems in the order Sepioidea ». *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 61 (4): 901-16. <https://doi.org/10.1017/S0025315400023043>.
- Herring, P. J. 1987. « Systematic distribution of bioluminescence in living organisms ». *J. Biolum. Chemilum.* 1(3): 147-63. <https://doi.org/10.1002/bio.1170010303>.
- Herring, P. J. 2000. « Bioluminescent signals and the role of reflectors ». *J. Opt. A* 2(6): R29-38. <https://doi.org/10.1088/1464-4258/2/6/202>.
- Herring, P. J., et E. A. Widder. 2001. « Bioluminescence\* ». In *Encyclopedia of Ocean Sciences (Second Edition)*, édité par John H. Steele, 376-84. Oxford: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012374473-9.00200-9>.
- Hopwood, D. 1969. « Fixatives and fixation: a review ». *The Histochemical Journal* 1 (4): 323-60. <https://doi.org/10.1007/BF01003278>.

- Hubbs, C. L., T. Iwai, et K. Matsubara. 1967. « External and internal characters, horizontal and vertical distributions, luminescence, and food of the dwarf pelagic shark, *Euprotomicrus bispinatus* ». *UC San Diego: Scripps Institution of Oceanography* 10:1967. <https://escholarship.org/uc/item/0868j08s>.
- Johnson, G. D., et R. H. Rosenblatt. 1988. « Mechanisms of light organ occlusion in flashlight fishes, family Anomalopidae (Teleostei: Beryciformes), and the evolution of the group ». *Zool. J. Linn. Soc.* 94(1): 65-96. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1988.tb00882.x>.
- Kaskova, Z. M., A. S. Tsarkova, et I. V. Yampolsky. 2016. « 1001 lights: luciferins, luciferases, their mechanisms of action and applications in chemical analysis, biology and medicine ». *Chem. Soc. Rev.* 45(21): 6048-77. <https://doi.org/10.1039/C6CS00296J>.
- Kousteni, V. 2021. « Morphometric description and biological notes on the rare kitefin shark *Dalatias licha* (Chondrichthyes: Dalatiidae) from the Hellenic waters ». *J. Fish Biol.* 99(1): 258-63. <https://doi.org/10.1111/jfb.14690>.
- Krönström, J. 2009. *Control of bioluminescence. Operating the light switch in photophores from marine animals*. <https://gupea.ub.gu.se/handle/2077/19172>.
- Krönström, J., S. Dupont, J. Mallefet, M. Thorndyke, et S. Holmgren. 2007. « Serotonin and nitric oxide interaction in the control of bioluminescence in Northern krill, *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) ». *J. Exp. Biol.* 210: 3179-87. <https://doi.org/10.1242/jeb.002394>.
- Krönström, J., et J. Mallefet. 2010. « Evidence for a widespread involvement of NO in control of photogenesis in bioluminescent fish ». *Acta Zoologica* 91(4): 474-83. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2009.00438.x>.
- Lau, E. S., et T. H. Oakley. 2021. « Multi-level convergence of complex traits and the evolution of bioluminescence ». *Biol. Rev.* 96(2): 673-91. <https://doi.org/10.1111/brv.12672>.
- Mallefet, J., L. Duchatelet, et C. Coubris. 2020. « Bioluminescence induction in the ophiuroid *Amphiura filiformis* (Echinodermata) ». *J. Exp. Biol.* 223: jeb.218719. <https://doi.org/10.1242/jeb.218719>.
- Mallefet, J., L. Duchatelet, C. Hermans, et F. Baguet. 2019. « Luminescence control of Stomiidae photophores ». *Acta Histochem.* 121(1): 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.10.001>.
- Mallefet, J., D. W. Stevens, et L. Duchatelet. 2021. « Bioluminescence of the largest luminous vertebrate, the kitefin shark, *Dalatias licha*: first insights and comparative aspects ». *Front. Mar. Sci.* 8: 633582. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.633582>.
- Marek, P., D. Papaj, J. Yeager, S. Molina, et W. Moore. 2011. « Bioluminescent aposematism in millipedes ». *Curr. Biol.* 21(18): R680-81. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.08.012>.

- Martini, S., et S. H. D. Haddock. 2017. « Quantification of bioluminescence from the surface to the deep sea demonstrates its predominance as an ecological trait ». *Sci. Rep.* 7(1): 45750. <https://doi.org/10.1038/srep45750>.
- Mensingher, A. F. 2011. « THE SKIN | Bioluminescence in Fishes ». In *Encyclopedia of Fish Physiology*, édité par Anthony P. Farrell, 497-503. San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00160-X>.
- Mullins, U. L., P. B. Fernandes, et A. S. Eison. 1997. « Melatonin agonists induce phosphoinositide hydrolysis in *Xenopus laevis* melanophores ». *Cell. Signal.* 9(2): 169-73. [https://doi.org/10.1016/S0898-6568\(96\)00137-4](https://doi.org/10.1016/S0898-6568(96)00137-4).
- Munk, O., et J. M. Jørgensen. 1988. « Putatively luminous tissue in the abdominal pouch of a male dalatiine shark, *Euprotomicroides zantedeschia* Hulley & Penrith, 1966 ». *Acta Zoologica* 69(4): 247-51. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1988.tb00921.x>.
- Navarro, J., L. López, M. Coll, C. Barría, et R. Sáez-Liante. 2014. « Short- and long-term importance of small sharks in the diet of the rare deep-sea shark *Dalatias licha* ». *Mar. Biol.* 161(7): 1697-1707. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2454-2>.
- Nicolas, M. T., G. Nicolas, C. H. Johnson, J. M. Bassot, et J. W. Hastings. 1987. « Characterization of the bioluminescent organelles in *Gonyaulax polyedra* (dinoflagellates) after fast-freeze fixation and antiluciferase immunogold staining. » *J. Cell Biol.* 105(2): 723-35. <https://doi.org/10.1083/jcb.105.2.723>.
- Oba, Y., S.-I. Kato, M. Ojika, et S. Inouye. 2009. « Biosynthesis of coelenterazine in the deep-sea copepod, *Metridia pacifica* ». *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 390(3): 684-88. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.10.028>.
- Paitio, J., et Y. Oba. 2021. « Bioluminescence and pigments ». In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns*, édité par Hisashi Hashimoto, Makoto Goda, Ryo Futahashi, Robert Kelsh, et Toyoko Akiyama, 149-81. Singapore: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-1490-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-16-1490-3_5).
- Paitio, J., Y. Oba, et V. Meyer-Rochow. 2016. « Bioluminescent fishes and their eyes ». In , 297-332. <https://doi.org/10.5772/65385>.
- Paitio, J., D. Yano, E. Muneyama, S. Takei, H. Asada, M. Iwasaka, et Y. Oba. 2020. « Reflector of the body photophore in lanternfish is mechanistically tuned to project the biochemical emission in photocytes for counterillumination ». *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 521(4): 821-26. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.197>.

- Pinte, N., P. Parisot, U. Martin, V. Zintzen, C. De Vleeschouwer, C. D. Roberts, et J. Mallefet. 2020. « Ecological features and swimming capabilities of deep-sea sharks from New Zealand ». *Deep Sea Res. I* 156: 103187. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.103187>.
- Reif, W.-E. 1985. « Functions of scales and photophores in mesopelagic luminescent sharks ». *Acta Zoologica* 66(2): 111-18. <https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1985.tb00829.x>.
- Renwart, M., et J. Mallefet. 2013. « First study of the chemistry of the luminous system in a deep-sea shark, *Etmopterus spinax* Linnaeus, 1758 (Chondrichthyes: Etmopteridae) ». *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 448: 214-19. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2013.07.010>.
- Renwart, M., J. Delroisse, J. M. Claes, et J. Mallefet. 2014. « Ultrastructural organization of lantern shark (*Etmopterus spinax* Linnaeus, 1758) photophores ». *Zoomorphology* 133(4): 405-16. <https://doi.org/10.1007/s00435-014-0230-y>.
- Renwart, M. 2014. « Ultrastructure and biochemistry of the light-emitting system of lantern shark (*Etmopterus spinax*) photophores ». Prom. : Mallefet, Jérôme
- Renwart, M., J. Delroisse, P. Flammang, J. M. Claes, et J. Mallefet. 2015. « Cytological changes during luminescence production in lanternshark (*Etmopterus spinax* Linnaeus, 1758) photophores ». *Zoomorphology* 134(1): 107-16. <https://doi.org/10.1007/s00435-014-0235-6>.
- Shimomura, O. 2012. *Bioluminescence: Chemical Principles and Methods*. World Scientific.
- Sorenson, L., F. Santini, et M. E. Alfaro. 2014. « The effect of habitat on modern shark diversification ». *J. Evol. Biol.* 27(8): 1536-48. <https://doi.org/10.1111/jeb.12405>.
- Sparks, J.S., P. V. Dunlap, et W. L. Smith. 2005. « Evolution and diversification of a sexually dimorphic luminescent system in ponyfishes (Teleostei: Leiognathidae), including diagnoses for two new genera ». *Cladistics* 21(4): 305-27. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2005.00067.x>.
- Stehmann, M., et P. Kamminga. 2016. « Re-description of the rare taillight shark *Euprotomicroides zantedeschia* (Squaliformes, Dalatiidae), based on third and fourth record from off Chile ». *Cybium: international journal of ichthyology* 40 (septembre).
- Straube, N., S. P. Iglésias, D. Y. Sellos, J. Kriwet, et U. K. Schliewen. 2010. « Molecular phylogeny and node time estimation of bioluminescent lantern sharks (Elasmobranchii: Etmopteridae) ». *Mol. Phylogenetics Evol.* 56(3): 905-17. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.04.042>.
- Straube, N., C. Li, J. Claes, S. Corrigan, et G. Naylor. 2015. « Molecular phylogeny of Squaliformes and first occurrence of bioluminescence in sharks ». *BMC Evol. Biol.* 15: 162. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0446-6>.

- Strum, J. M. 1969. « Photophores of *Porichthys notatus*: ultrastructure of innervation ». *Anat. Rec.* 164(4): 463-77. <https://doi.org/10.1002/ar.1091640405>.
- Tanet, L., C. Tamburini, C. Baumas, M. Garel, G. Simon, et L. Casalot. 2019. « Bacterial bioluminescence: light emission in *Photobacterium phosphoreum* is not under quorum-sensing control ». *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00365>.
- Valiadi, M., et D. Iglesias-Rodriguez. 2013. « Understanding bioluminescence in dinoflagellates—How far have we come? » *Microorganisms* 1 (1): 3-25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms1010003>.
- Vanderlinden, C., et J. Mallefet. 2004. « Synergic effects of tryptamine and octopamine on ophiuroid luminescence (Echinodermata) ». *J. Exp. Biol.* 207: 3749-56. <https://doi.org/10.1242/jeb.01209>.
- Visconti, M. A., G. C. Ramanzini, C. R. Camargo, et A. M. Castrucci. 1999. « Elasmobranch color change: a short review and novel data on hormone regulation ». *J. Exp. Zool.* 284(5): 485-91. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-010x\(19991001\)284:5<485::aid-jez3>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-010x(19991001)284:5<485::aid-jez3>3.0.co;2-5).
- Wasmeier, C., A. N. Hume, G. Bolasco, et M. C. Seabra. 2008. « Melanosomes at a glance ». *J. Cell Sci.* 121(24): 3995-99. <https://doi.org/10.1242/jcs.040667>.
- Widder, E. A. 2010. « Bioluminescence in the ocean: origins of biological, chemical, and ecological diversity ». *Science* 328: 704-8. <https://doi.org/10.1126/science.1174269>.
- Widder, E. A. 1998. « A predatory use of counterillumination by the squaloid shark, *Isistius brasiliensis* ». *Environ. Biol. Fish.* 53(3): 267-73. <https://doi.org/10.1023/A:1007498915860>.
- Wilson, T., et J. W. Hastings. 1998. « Bioluminescence ». *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.* 14(1): 197-230. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.14.1.197>.
- Young, B. 2015. *Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheeler*. Louvain-la-Neuve: De Boeck. <https://ils.bib.uclouvain.be/global/documents/3308392>.