

DYNAMIQUE ET ENZYMOLOGIE DE LA DIGESTION CHEZ L'HUITRE

CRASSOSTREA GIGAS (THUNBERG)

E. BOUCAUD-CAMOU, C. LEBESNERAIS, P. LUBET et I. LIHRMANN

Laboratoire de Zoologie, Université de Caen, 14032 CAEN CEDEX

CONTRAT 82/P/0042

RESUME Chez Crassostrea gigas (Thunberg) des expériences d'alimentation contrôlée ont permis d'établir les modalités et la chronologie du transit alimentaire. Différentes activités enzymatiques en relation avec la digestion (glycosidases, estérases et peptidases) ont été localisées dans l'appareil digestif et ont permis de préciser les sites de digestion des glucides et des protides et les sites d'absorption. Un schéma explicatif des différentes étapes de la digestion est proposé.

Feeding experiments carried out on Crassostrea gigas (Thunberg) allowed to set up the stages and the timing of the movement of food throughout the digestive tract. Various activities involved in digestion (glycosidases, esterases, and peptidases) were investigated histochemically in the digestive tract in order to localize the sites of absorption and the sites of protein and carbohydrate digestion. An explicative model of the different stages of digestion is proposed.

MOTS CLES : Crassostrea gigas, Huitre, Digestion, Transit digestif, Enzymes.

KEY WORDS : Crassostrea gigas, Oyster, Digestion, Movement of food, Enzymes.

INTRODUCTION

L'étude de la digestion chez les Bivalves a donné lieu à de nombreux travaux. Dans une récente revue, Morton (1983) cite plus de 400 titres parmi lesquels seulement moins de trente sont consacrés aux Ostréidés. Chez ces derniers, l'huitre japonaise, Crassostrea gigas a relativement peu retenu l'attention des auteurs, tant au point de vue de l'anatomie et de la cytologie du tractus digestif que de celui du transit des aliments, des modalités de la digestion ou de la nature des activités enzymatiques, (Mathers, 1973 ; Morton, 1977). Il était donc indispensable que de nouvelles recherches portent sur une espèce d'intérêt économique mondial. En particulier, il convenait de préciser les séquences et les modalités du transit digestif, la nature, l'origine et la sécrétion des différentes enzymes car la localisation de ces dernières n'avait pas été faite jusqu'ici par les auteurs.

Ce travail a été entrepris dans le cadre de "l'A.T.P. Bases biologiques de l'Aquaculture" (Contrat 82/P/0042). Dans l'ensemble des recherches effectuées sur les Mollusques, il s'intègre à la suite du programme portant sur la quantification de la prise de nourriture et de l'énergie absorbée par les huîtres. Il permettra de mieux apprécier l'utilisation du matériel particulaire absorbé comme la nature des déchets (fèces) libérés dans le milieu (biodéposition). En effet la quantification, dans ces derniers, des matériaux réutilisables constituera un des éléments permettant d'établir des bilans énergétiques. Il importe en effet d'apprécier dans les différents bassins ostréicoles français les potentialités nutritionnelles du milieu afin d'adapter la charge en mollusques cultivés aux possibilités naturelles. Enfin, la connaissance des rythmes de prise de nourriture, de transit et de digestion permettront la réalisation de distributions efficaces d'aliments et de régimes adaptés en nurseries pour les animaux en pré-grossissement.

MATERIEL ET METHODES

1.1. Matériel

Les Huîtres utilisées pour cette étude sont des Crassostrea gigas (Thunberg) de 70 à 100 g. provenant des parcs d'élevage des côtes du Cotentin (côte ouest : Blainville, côte est : Saint-Vaast-La-Hougue, Baie des Veys). Pour la reconstitution du tractus digestif, nous avons utilisé du naissain en provenance de la Gironde (taille : 1 cm).

1.2. Méthodes histologiques et histochimiques

L'anatomie microscopique (reconstitution du tractus digestif par des coupes sériées) et l'étude histologique de l'appareil digestif ont été réalisées sur des pièces fixées au liquide de Bouin-Hollande, incluses à la paraffine, coupées à 6 μ m et colorées au trichrome de Prenant-Gabe (Gabe, 1968).

Les polysaccharides ont été recherchés par la méthode à l'acide périodique-Schiff et par le bleu alcian (Gabe, 1968) sur des pièces fixées au liquide de Gendre et incluses à la paraffine.

Les protéines ont été recherchées sur des pièces fixées au formol salé, incluses à la paraffine et traitées par la méthode de Deitch (acidophilie totale), le vert solide FCF (protéines basiques) (selon Gabe, 1968) et le bleu de bromophenol (Mazia et al., 1953).

La localisation des lipides a été réalisée au moyen des colorants lysochromes (rouge à l'huile, noir soudan) et du bleu de Nil (lipides à caractère acide) selon Gabe (1968) sur des coupes à congélation de 12 μ m d'épaisseur de pièces fixées au formol salé ou au formol calcium. Des contrôles ont été réalisés par extraction des lipides sur coupes par un mélange (v/v) de méthanol et de chloroforme.

1.3. Méthodes cytologiques

La fixation de petites pièces de glande digestive a été réalisée par du glutaraldéhyde à 2 % dans un tampon au cacodylate de sodium : HCl (pH 7,4) additionné de saccharose. Une post-fixation au tétr oxyde d'osmium à 2 % dans le même tampon a suivi. Les pièces ont été ensuite déshydratées et incluses dans l'épon.

L'étude cytologique a été réalisée sur des coupes semi-fines (0,5 à 1 μ m) colorées au bleu de toluidine boraté et des coupes ultrafines, contrastées par de l'acétate d'uranyle suivi de citrate de plomb et observées au microscope électronique.

1.4. Expériences d'alimentation contrôlée

Les Huîtres de 90 à 100 g. provenant de l'Est Cotentin (Baie des Veys) sont mises à jeûner pendant 48 heures, puis émergées quelques heures, ce qui provoque le déclenchement immédiat et simultané de la filtration dès la remise en eau. Elles sont alors placées dans des conditions contrôlées d'oxygénation (saturation) de salinité (30 ‰), de luminosité (obscurité), de température (variant de 9 à 25° selon les expériences) et de nourriture (mélange de Dunaliella sp., Chlorophycée et de Phaeodactylum tricornutum, Diatomée). Au bout d'un temps variant de 3 à 22 heures suivant les expériences, les Huîtres sont placées dans des bacs dépourvus

d'algues. Tout au long de l'expérience, pseudofèces et les fèces sont constamment prélevées pour limiter le "recyclage" et observées au microscope afin de déterminer le stade de digestion des algues. Dans la troisième série d'expériences, des coupes à congélation ont été réalisées toutes les heures sur 2 Huîtres afin d'observer l'état des algues à différents niveaux du tractus digestif.

Trois séries d'expériences ont été réalisées afin d'étudier :

- 1) l'effet de la durée de la prise alimentaire : 3 h et 5 h 30 (temps courts) et 22 h (temps long) (température de l'eau 9-10°).
- 2) l'effet de la température sur la digestion (température d'expérience : 10° - 14° - 20° - 25° ; durée de la prise alimentaire : 3 heures). (Tableau I)
- 3) l'évolution du contenu du tube digestif pendant les 8 premières heures de digestion (température d'expérience : 18-20° ; durée de la prise de nourriture : 4 heures).

1.5. Méthodes enzymologiques

1.5.1. Détection d'activités enzymatiques in vitro

19 activités enzymatiques (tableau II) ont été recherchées à partir d'un extrait brut de tissu suivant une méthode mise au point par Plantevin et al. (1972) et commercialisée sous le nom d'"apizym".

L'activité amylasique a été mesurée, selon la méthode de Bernfeld (1955) légèrement modifiée, sur des extraits obtenus par broyage et homogénéisation de tractus digestif entier dans un tampon phosphate additionné de Na Cl. La proportion de tissu frais était d'environ 100 mg/ml. Les protéines extraites ont été dosées par la méthode de Lowry et al. (1951).

L'activité protéasique totale a été recherchée selon la méthode de Rinderknecht et al. (1968) utilisant comme substrat le "Hide powder azure" de Calbiochem sur des extraits obtenus selon Boucaud-Camou (1974). Comme précédemment, la proportion de tissu frais était d'environ 100 mg/ml et les protéines extraites dosées selon Lowry et al. (1951).

1.5.2. Méthodes histo-enzymologiques

Toutes les recherches enzymatiques in situ ont été réalisées sur des tissus frais, non fixés. L'appareil digestif de l'Huître est rapidement congelé dans du fréon liquide, puis débité dans un cryomicrotome en coupes de 12 à 14 µm d'épaisseur.

1.5.2.1. Méthodes d'empreintes

Ces méthodes utilisent l'action directe des coupes à congélation sur un film de substrat (Daoust, 1957, 1965). Les protéases ont été recherchées selon la méthode de Chrétien (1965) modifiée, l'amylase selon Shear et Pearse (1963), la laminarinase et la cellulase selon Arnould et Bouchez-Decloux (1978), l'alginate selon Arnould et Jeuniaux (1982).

1.5.2.2. Méthodes de précipitation

Toutes les méthodes que nous avons appliquées dans cette étude utilisent comme substrat un dérivé naphtholique couplé à un sel de diazonium. 15 enzymes en

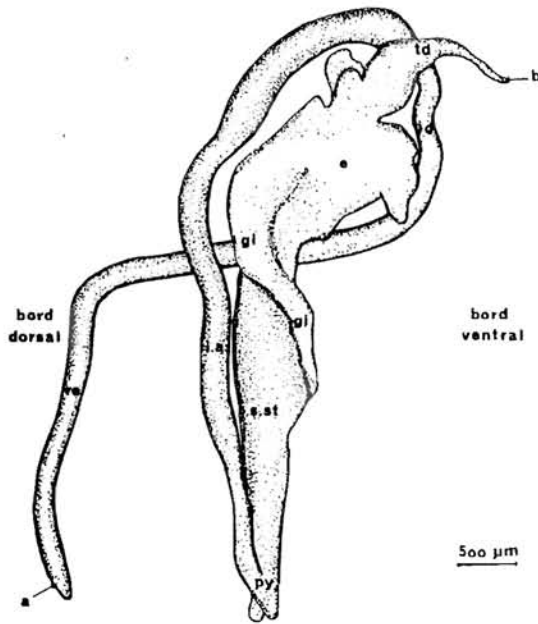


FIGURE 1 : Reconstitution du tractus digestif de *Crassostrea gigas* juvénile vu sur la face droite. La glande digestive n'est pas figurée.

a : anus ; b : bouche ; gi : gouttière intestinale ;
 ia : intestin ascendant ; id : intestin descendant ; py : pylore ;
 re : rectum ; sst : sac du stylet ; td : œsophage .

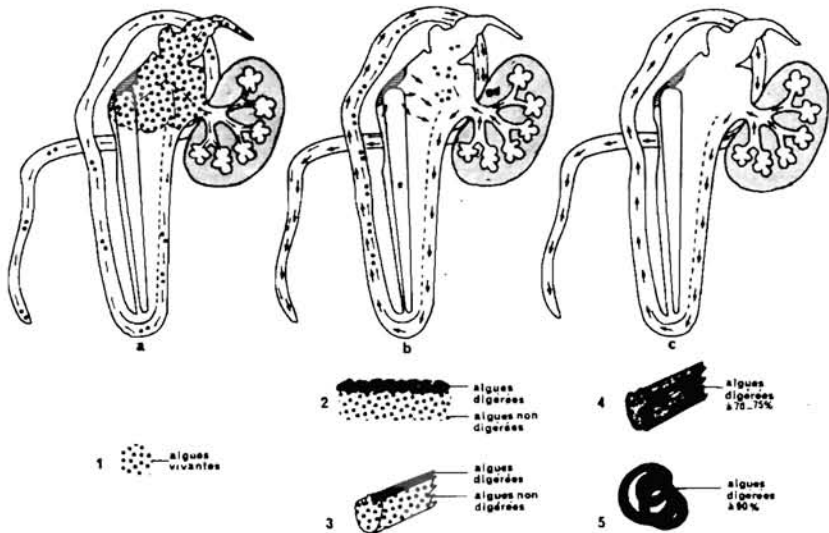


FIGURE 2 : Représentation schématique du transit digestif chez *Crassostrea gigas* (résultats des expériences d'alimentation contrôlée).

- a : remplissage du tube digestif : le tube digestif se remplit complètement d'algues dont une bonne partie est émise par l'anus(1)
- b : digestion : les résidus de la digestion en provenance de la glande digestive et de l'estomac se mêlent aux algues non digérées. Les fèces d'abord rubannées (2) se moulent à la forme du rectum (3).
- c : fin de digestion : la proportion des résidus de digestion l'emporte sur celle des algues intactes (4). En fin de digestion, il n'y a pratiquement plus d'algues dans le tube digestif. Les fèces se déshydratent et s'enroulent en cordons (5).
- (s : stylet cristallin ; g. d : glande digestive ;
 -•• : trajet des algues vivantes .
 - : trajet des algues digérées).

relation avec la digestion ont été recherchées (la méthode suivie est indiquée entre parenthèses, le substrat utilisé figure sur les tableaux III, IV et V) :

β N-acétylglucosaminidase et β glucuronidase (Lowe *et al.*, 1982) ; estérases non spécifiques (Gomori, 1952 selon Lojda *et al.*, 1979) ; lipase (Abé *et al.*, 1963) ; phosphatase acide (Grogg et Pearse, 1952, selon Gabe, 1968) ; phosphatase alcaline (Pearse, 1953, selon Lojda *et al.*, 1979) ; chymotrypsine (Lagunoff, 1967) ; cathepsine B (Graf *et al.*, 1979) ; cathepsine D (Smith et Van Frank, 1975, modifiée) ; cathepsine C ou D.A.P. I, D.A.P. II et D.A.P. IV (Lojda *et al.*, 1979) ; D.A.P. III (Mac Donald *et al.*, 1971) ; aminopeptidase M ou leucine aminopeptidase (Moore *et al.*, 1980). (1)

RESULTATS

1. ORGANISATION DE L'APPAREIL DIGESTIF

1.1. Anatomie

Des dissections et des coupes sériées ont permis de reconstituer très précisément l'anatomie de l'appareil digestif (fig. 1).

La bouche s'ouvre entre les palpes labiaux. A la bouche, fait suite l'oesophage, légèrement courbé qui aboutit à l'estomac. Celui-ci communique, par des canaux, avec la glande digestive, masse pigmentée de couleur kaki.

L'estomac se prolonge, postérieurement par un cœcum cylindrique, disposé obliquement : le sac du stylet (= estomac tubulaire) dans lequel se trouve un batonnet translucide et de consistance molle : le stylet cristallin, faisant largement saillie dans la cavité stomacale (fig. 2).

A demi séparée du sac du stylet par deux typhlosoles, majeur et mineur, provenant de l'estomac, la gouttière intestinale (ou gouttière gastrique de l'intestin moyen) décrit une spirale très lâche le long du sac du stylet (fig. 1). A l'extrémité postérieure du tractus, la gouttière intestinale s'ouvre dans l'intestin, dans un sillon correspondant, tandis que le sac du stylet se prolonge un peu plus postérieurement et s'ouvre dans l'autre sillon de l'intestin (fig. 2) ; les deux organes, gouttière et sac du stylet, étant alors séparés dans leur région terminale.

Dès son départ, l'intestin présente un trajet récurrent (branche ascendante), décrit une boucle dorso-ventrale autour de l'estomac et de la glande digestive et se dirige alors (branche descendante) vers l'extrémité postérieure de l'animal. A l'intestin, fait suite le rectum qui longe la face externe dorsale du muscle adducteur et se termine par l'anus, s'ouvrant dans la cavité palléale (fig. 1).

1.2. Structure histologique

1.2.1. Tractus digestif

A l'exception du bouclier gastrique, le tractus digestif (oesophage, estomac, sac du stylet, intestin) est tapissé par un épithélium cilié contenant

(1) D.A.P. : Dipeptidylaminopeptidase, M.N.A : 4 méthoxy- β -naphtylamide.

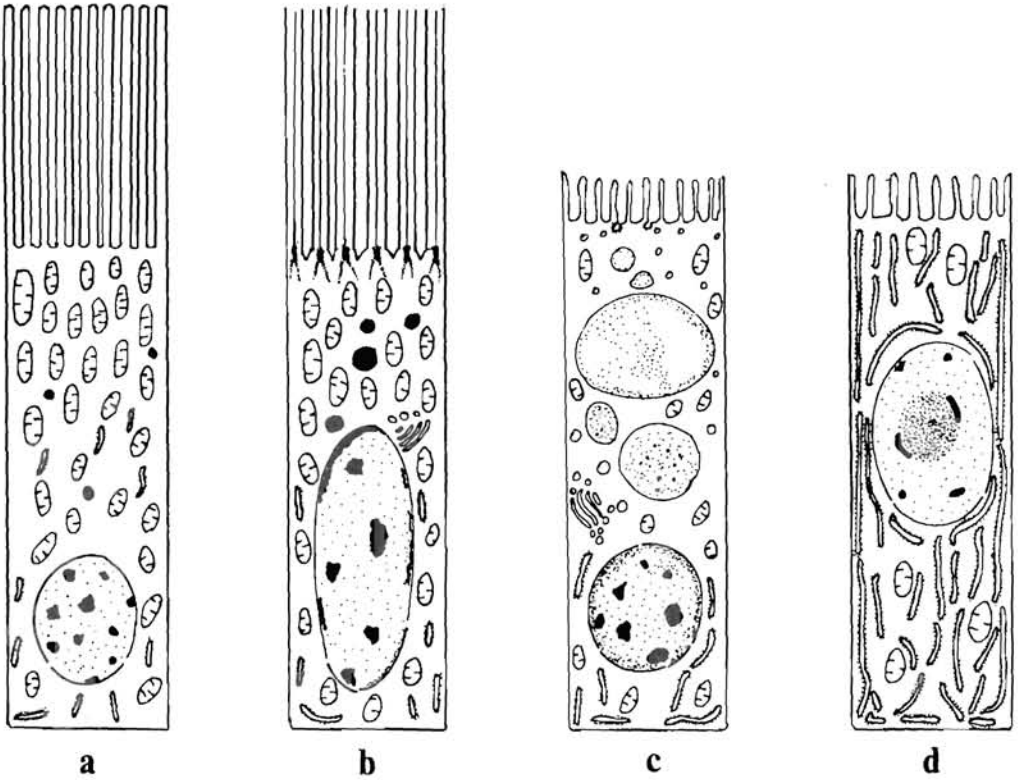


FIGURE 3 : Principaux types cellulaires rencontrés dans la glande digestive de Crassostrea gigas.

- a : cellule à bordure en brosse (canaux principaux, voie inhalante et canaux secondaires).
- b : cellule ciliée (canaux principaux, voie exhalante).
- c : cellule digestive (tubules glandulaires).
- d : cellule basophile (tubules glandulaires).

de nombreuses cellules glandulaires à sécrétion glycoprotéique. La paroi musculaire est très peu développée. Ainsi, la structure histologique du tractus digestif paraît très uniforme : seules varient, suivant les régions, la hauteur des cellules ciliées et de leurs cils et la densité des cellules glandulaires (Pl. I, fig. 1).

Le bouclier gastrique fait exception. Il est constitué d'une couche de cellules hautes, revêtues d'une cuticule épaisse, chitineuse et sclérotisée. (Arnould, 1976).

1.2.2. Glande digestive

La glande digestive consiste en un grand nombre de tubules à extrémité aveugle communiquant avec l'estomac par une série de canaux ramifiés.

Les tubules glandulaires débouchent dans un court canal secondaire (commun à plusieurs tubules), ce dernier aboutissant dans un canal principal. Les canaux principaux confluent en des canaux de diamètre de plus en plus important avant de déboucher dans l'estomac.

Les canaux principaux sont divisés en deux régions : l'une est tapissée par un épithélium à bordure ciliée, l'autre, par un épithélium à bordure en brosse (Pl. I, fig. 2).

Dans les deux épithéliums sont disséminées des cellules glandulaires, plus nombreuses cependant dans l'épithélium à bordure en brosse.

Les cellules ciliées (fig. 3, b) sont de hautes cellules munies de nombreux cils, à racine ciliaire développée, alternant avec des microvillosités. Le noyau est basal. Dans la partie apicale de la cellule, on observe de nombreuses mitochondries et quelques granulations denses aux électrons.

Les cellules à bordure en brosse (fig. 3, a) sont frangées à leur partie apicale de nombreuses microvillosités très hautes et très serrées. Les mitochondries sont très abondantes ; quelques granules électro-denses sont visibles.

Les cellules glandulaires ont un aspect caliciforme typique. Leur noyau est refoulé à la base de la cellule. Le cytoplasme est rempli de grains de sécrétion, peu denses aux électrons et de nature glycoprotéique.

Les canaux secondaires sont tapissés par un épithélium formé de cellules à bordure en brosse identiques à celles des canaux principaux.

Les tubules glandulaires contiennent deux catégories de cellules qui ne se distinguent facilement qu'en microscopie électronique :

a) Les cellules digestives sont les plus nombreuses. Ce sont des cellules hautes, dont la partie apicale porte quelques microvillosités (fig. 3, c). Le noyau est basal, les mitochondries assez nombreuses. La présence de vacuoles hétérophagiques à divers stades d'évolution caractérise ces cellules.

b) Les cellules basophiles sont caractérisées par un cytoplasme riche en vésicules de réticulum endoplasmique rugueux. Le noyau possède un nucléole développé. Toutefois, les grains de sécrétion y sont rares. Quelques microvillosités et cils bordent la partie apicale de ces cellules (fig. 3, d).

Les différents canaux et tubules de la glande digestive sont entourés par du tissu de réserve formé de cellules de nature conjonctive chargées d'abondants granules lipidiques et de glycogène.

	+ 10°	+ 14°	+ 20°	+ 25°
Apport de nourriture (Algues)	0 à + 3h	0 à + 3h	0 à + 3h	0 à + 3h
Emission d'algues intactes	+ 5h		+ 3h	+ 2h
Emission des premiers résidus de la digestion (féces en rubans)	+ 6h	+ 6h	+ 4h30	+ 3h 30
Féces "moulées" (30 - 40 % algues digérées)	+ 8h30	+ 8h30	+ 6h15	+ 4h40
> 70 à 95 % de résidus de la digestion dans les féces	+ 13h à + 40h	+ 13h à + 40h	+ 8h 30 à + 33h	+ 8h30 à + 33h
100 % résidus de la digestion	+ 60h	+ 45h	+ 37h	+ 37h
Plus de féces (T.D. vide)	→ 75h	→ 60h	→ 50h	→ 50h

Tableau I : Influence de la température sur les différentes phases de la digestion chez

Crassostrea gigas.

ENZYME RECHERCHEE	SUBSTRAT	RESULTAT
Phosphatase alcaline	2-naphthyl phosphate	+++
Estérase (C4)	2-naphthyl butyrate	++
Estérase lipase (CB)	2-naphthyl caprylate	+++
Lipase (C14)	2-naphthyl myristate	0
Leucine arylamidase	L-leucyl-2-naphthylamide	+++
Valine arylamidase	L-valyl-2-naphthylamide	+++
Cystine arylamidase	L-cystyl-2-naphthylamide	+++
Trypsine	N-benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide	+/-
Chymotrypsine	N-glutaryl-phénylalanine-2-naphthylamide	-/-
Phosphatase acide	2-naphthyl phosphate	+++
Phosphoamidase	Naphthol-AS-B1-phosphodiamide	+++
α Galactosidase	6-Br-2-naphthyl- α D-galactopyranoside	+
β Galactosidase	2-naphthyl- β D-galactopyranoside	+++
β Glucuronidase	Naphthol-AS-B1- β D-glucuronate	+++
α Glucosidase	2-naphthyl- α D-glucopyranoside	++
β Glucosidase	6-Br-2-naphthyl- β D-glucopyranoside	++
N-acétyl- β glucosaminidase	1-naphthyl-N-acétyl- β D-glucosaminide	++
α mannosidase	6-Br-2-naphthyl- α D-mannopyranoside	+
α Fucosidase	2-naphthyl- α L-fucopyranoside	+++

Tableau II : Résultat des tests spizym

2. DYNAMIQUE DU TRANSIT DIGESTIF

Les expériences d'alimentation contrôlée nous ont permis d'établir une chronologie précise des différentes étapes de la digestion (fig. 2 et Tableau I).

1ère étape : remplissage du tractus digestif (fig. 2, a)

Le tube digestif se remplit complètement d'algues, assez rapidement : on observe des algues intactes dans l'estomac, les canaux principaux de la glande digestive et l'intestin. Il faut 5 à 3 heures environ entre 10 et 20° pour que les algues aient complètement traversé le tube digestif. Celles-ci sont alors émises par l'anus, mêlées à un abondant mucus (fig. 2, a₁).

Cette étape est nettement influencée par la température (tableau I).

2ème étape : début de la digestion (fig. 2, b)

Dès leur entrée dans les canaux de la glande digestive (lors de la première heure de digestion), les algues sont attaquées, alors que des algues vivantes sont observées assez longtemps dans l'estomac (pendant environ 6 heures) et surtout dans l'intestin (8 à 16 heures après le début de l'alimentation). 3 à 6 heures après le début des expériences, les premiers résidus de la digestion apparaissent dans les fèces, mêlés à de nombreuses algues vivantes (fig. 2, b 2).

Progressivement, le pourcentage de résidus va augmenter, tandis que les fèces se solidifient et se moulent à la forme du rectum. Les résidus sont accumulés en un ruban plissé, nettement séparé du ruban droit formé par les algues, intactes (fig. 2, b 3). L'ensemble est probablement moulé dans la gouttière rectale, ce qui suppose des voies de transit séparées pour les algues et les résidus, au moins au début de la digestion.

3ème étape : fin de la digestion (fig. 2, c)

Les résidus vont dominer sur les algues intactes, envahissant toute la lumière du rectum, et l'on obtiendra, au bout d'une dizaine d'heures environ, des fèces homogènes (fig. 2, c 4), mais il faudra attendre environ 40 heures pour ne plus trouver d'algues vivantes dans les fèces. Celles-ci alors durcissent et s'enroulent en tortillons (fig. 2, c 5). Elles ne vont plus être émises de façon continue, mais par intermittence, mêlées à un abondant mucus. Le tractus digestif s'est totalement vidé au bout de 50 heures à 20° C, mais la digestion peut durer jusqu'à 75 heures à 10° C (tableau I).

3. LOCALISATION D'ACTIVITES ENZYMATIQUES

3.1. Résultats des tests "apizym"

Ces résultats sont consignés dans le tableau II. Les activités glycosidasiques et estérasiques (à l'exception de la lipase) sont importantes, alors que les activités protéolytiques de type chymotrypsine ou trypsine sont très faibles.

3.2. Activités glycosidasiques

Des activités α et β glucanasiques (amylase, cellulase et laminari-nase) ont été décelées dans tout l'appareil digestif, au niveau des épithéliums et dans la région luminale proche des épithéliums (tableau III et Pl. I, fig. 3). De même, une activité aétylglucosaminidasique est présente dans tout l'appareil

ENZYMES	SUBSTRATS	GLANDE DIGESTIVE		ESTOMAC		INTESTIN	
		Canaux	Tubules	Cellules ciliées	Bouclier gastrique	Ascendant	Descendant
Amylase	Amidon	+++	+++	+	+	+	+
Cellulase	Cellulose	++	++	++		++	++
Laminarinase	Laminarine	+	+	+		+	+
Alginase	Alginate de Na	-	-	-	-	-	-
β -N. acétylglucosaminidase	Naphtol AS.BI β -N. acétyl glucosamine	++	++	++	+++	++	++
β .glucuronidase	Naphtol AS.BI β . glucuronide	-	-	-	-	-	-

Tableau III : Localisation d'activités glycosidasiques dans l'appareil digestif de Crassostrea gigas.

ENZYME	SUBSTRAT	GLANDE DIGESTIVE		ESTOMAC		INTESTIN	
		Canaux	Tubules	Cellules ciliées	Bouclier gastrique	Ascendant	Descendant
Estérase non spécifiques	acétate d' α naphyle	+++	++	+++		+	
Lipase	nonanoate de naphtol AS	-	-	-	-	-	-
Phosphatase acide	phosphate d' α naphyle	+	+++	++		++	
Phosphatase alcaline	phosphate d' α naphyle	++	+	-	-	+ faible	+ faible

Tableau IV : Localisation d'activités esterasiques dans l'appareil digestif de Crassostrea gigas.

ENZYMES	SUBSTRATS	GLANDE DIGESTIVE		ESTOMAC		INTESTIN	
		Canaux	Tubules	Cellules ciliées	Bouclier gastrique	Ascendant	Descendant
Protéases	Gélatine	-	++	-	-	-	-
Chymotrypsine	Propionate de Naphtol AS	++	faible +	+		faible +	faible +
Cathepsine B	Cbz.Ala.Arg.Arg. MNA	+		++		++	++
Cathepsine D	Bz.Arg.Gly.Phe.Phe Pro. MNA	-	-	-		-	-
Cathepsine C ou D.A.P.I.	Pro.Arg.MNA	+++	-	++	-	+	-
DAP II	Lys.Ala.MNA	+++	-	++	-	++	++
DAP III	Arg.Arg.MNA	-	-	-	-	++	++
DAP IV	Gly.Pro.MNA	+	-	++	-	-	-
Aminopectidase M	Leu.MNA	++	++	++	+	+++	+++

Tableau V : Localisation d'activités peptidasiques dans l'appareil digestif de Crassostrea gigas.

digestif. Elle est particulièrement forte au niveau du bouclier gastrique et dans les cellules des tubules digestifs (tableau III).

3.3. Activités estérasiques

Une forte activité estérasique non spécifique a été détectée dans la glande digestive (surtout au niveau des canaux) et dans l'estomac (tableau IV). Dans l'intestin et dans l'estomac, cette activité a été localisée dans la partie apicale de l'épithélium. La phosphatase acide s'est révélée très active dans les tubules de la glande digestive alors que la phosphatase alcaline a été localisée au niveau de la bordure en brosse des canaux de la glande digestive et à la base des tubules (Pl. I, fig. 4).

3.4. Activités peptidasiques

L'activité protéasique est faible : elle a été mise en évidence uniquement au niveau des tubules de la glande digestive (Pl. II, fig. 1) et parfois dans la lumière intestinale. L'activité de type chymotrypsine se localise différemment (tableau V). En fait, la mesure in vitro de l'activité protéolytique de l'appareil digestif montre que le pH optimal se situe aux environs de 5,5 (fig. 4) qui est le pH optimal d'activité des enzymes à localisation lysosomale. Cependant, la plus grande partie des peptidases intracellulaires recherchées (cathepsines et dipeptidyl-aminopeptidases) a été décelée selon une localisation différente : ces enzymes se rencontrent au niveau de la bordure en brosse des canaux de la glande digestive (Pl. II, fig. 2) et dans la région apicale de l'épithélium cilié de l'estomac et de l'intestin (Pl. II, fig. 3) bien qu'il existe des différences entre leur distribution respective (tableau V).

3.5. Variations d'activités enzymatiques au cours de la digestion

Plusieurs enzymes ont été suivies au cours de la digestion afin de détecter d'éventuelles variations dans leur localisation ou dans leur activité.

3.5.1. Amylase

La mesure in vitro de l'activité amylasique d'extrait brut d'appareil digestif fait apparaître une baisse vers la 5ème heure, une remontée ensuite (fig. 5) (seul le début de la digestion a été étudié).

In situ, on observe une nette baisse d'activité dans les tubules de la glande digestive au début de la digestion, tandis que l'activité augmente dans les canaux, puis baisse légèrement ensuite. Dans l'estomac, l'amylase, localisée au voisinage de l'épithélium chez l'animal à jeun, s'incorpore à la tige cristalline au cours de la digestion (Pl. II, fig. 4).

3.5.2. N acétyl-glucosaminidase

Nous n'avons pas constaté de changements dans la distribution de cette enzyme, d'ailleurs assez largement répandue dans tout l'appareil digestif (tableau III). L'activité in situ, assez forte à jeun, paraît diminuer au cours de la digestion.

3.5.3. Estérases non spécifiques

Aucun changement n'a été observé dans la localisation de cette enzyme au cours de la digestion.

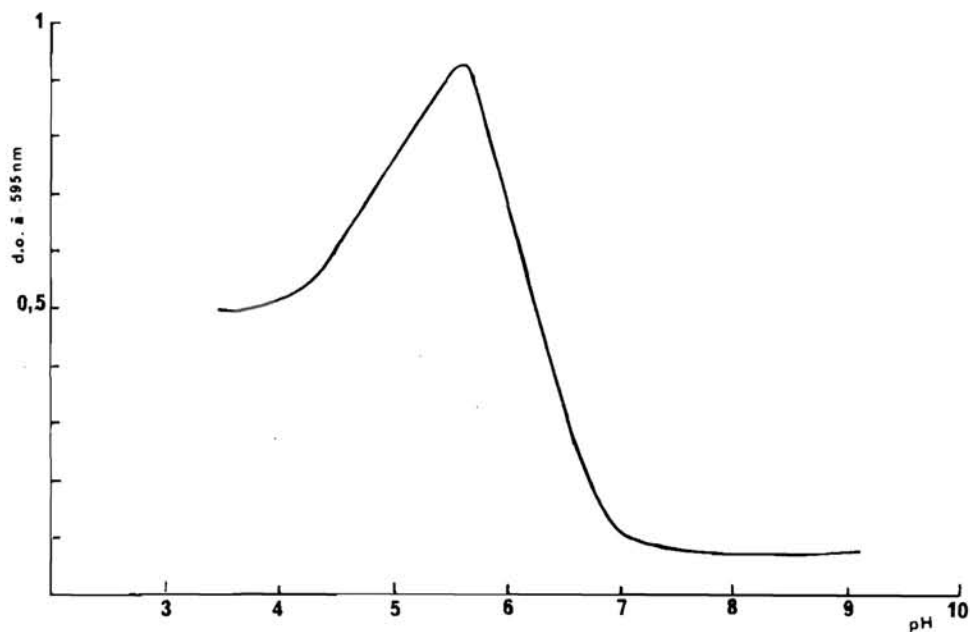


FIGURE 4 : Variation en fonction du pH de l'activité protéolytique d'extrait d'appareil digestif de *Crassostrea gigas*. (Durée de l'incubation : 3 heures à 37°). d; o. : densité optique.

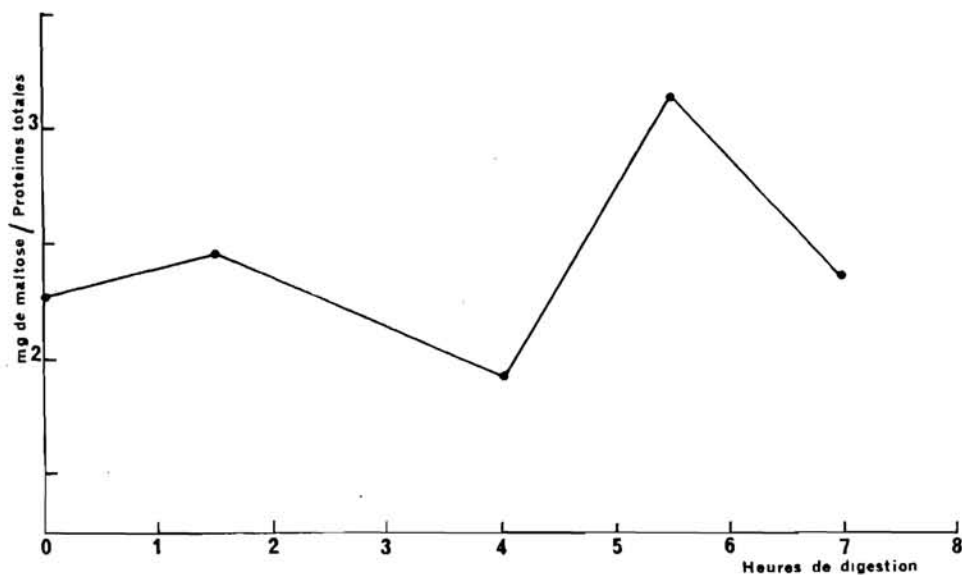


FIGURE 5 : Evolution de l'activité amylasique de l'appareil digestif au cours de la digestion chez *Crassostrea gigas*. (Durée de l'incubation : 8 minutes à 25°, pH 6,9).

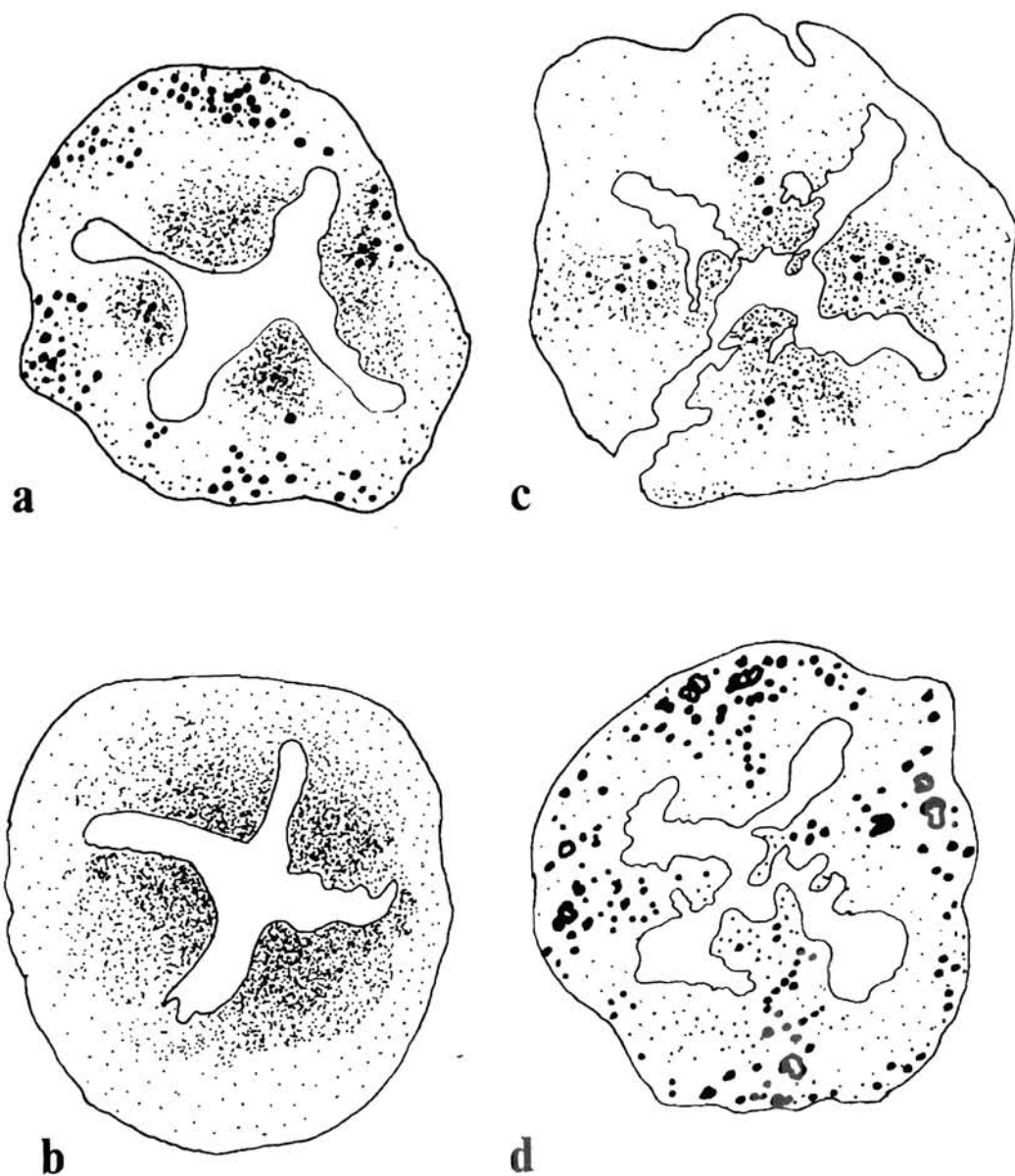


FIGURE 6 : Localisation de l'activité phosphatasique acide à différents stades de la digestion dans les tubules glandulaires de la glande digestive de Crassostrea gigas.

- a : animal à jeun.
- b : 2 heures de digestion
- c : 5 heures de digestion
- d : 24 heures de digestion.

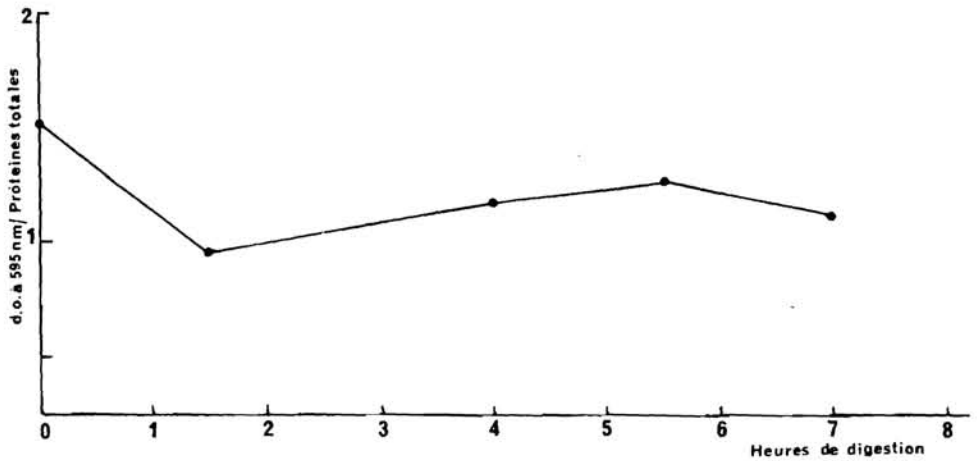


FIGURE 7 : Evolution de l'activité protéasique de l'appareil digestif au cours de la digestion chez *Crassostrea gigas*.
(Durée de l'incubation : 5 heures à 37°, pH 5,5). d.o. : densité optique.

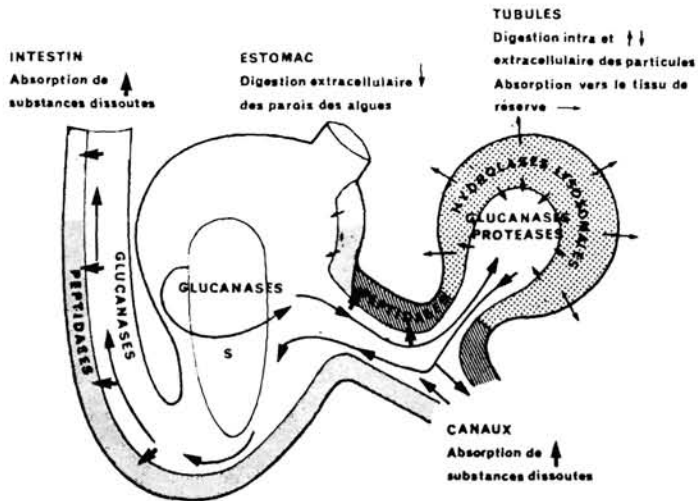


FIGURE 8 : Représentation schématique des différents sites de la digestion chez *Crassostrea gigas*.

← trajet des aliments
 ↑ : absorption transmembranaire ; ↑↑ : absorption par pinocytose.
 ↓ : sécrétion d'enzymes digestives.

s : stilet.

3.5.4. Phosphatase acide

Dans les tubules de la glande digestive, nous avons pu constater des changements assez nets de localisation de cette enzyme au cours de la digestion (fig. 6). A jeun, l'activité phosphatasique est surtout localisée dans des granules situés à la partie basale des cellules, et, sous forme plus diffuse, dans la région apicale (fig. 6, a). Au début de la digestion (2 heures) la phosphatase acide se trouve dans la partie apicale des tubules (fig. 6, b). Vers la 6ème heure de digestion, elle se situe dans la partie médiane (fig. 6, c) et en fin de digestion (24 heures), elle se localise dans la région basale des cellules, au niveau de gros granules (fig. 6, d).

3.5.5. Protéases

L'étude *in vitro* et *in situ* de l'activité protéasique montre que celle-ci baisse au début de la digestion, puis augmente ensuite légèrement (fig. 7). La localisation demeure réduite aux tubules de la glande digestive, avec toutefois une activité plus importante en fin de digestion.

L'activité de type chymotrypsine, suivie seulement *in situ*, montre peu de variations visuellement décelables : la localisation demeure la même. Seule une légère augmentation de l'activité au niveau des canaux de la glande digestive (partie inhalante) a été constatée vers la 2ème heure de digestion.

DISCUSSION

La structure du tractus digestif de l'huître japonaise *Crassostrea gigas* ne diffère pas de celle des autres Lamellibranches ; la musculature y est faible alors que la ciliature est très développée. Le transit alimentaire doit être essentiellement assuré par les cils qui tapissent la totalité des cavités digestives, processus assez naturel et répandu chez les animaux microphages dont le bol alimentaire est particulière.

La glande digestive présente la structure décrite par les auteurs (Morton, 1983), toutefois les canaux principaux ne possèdent pas de séparation par des typhlosoles de la région à bordure en brosse ("inhalante" selon Owen, 1955), de celle à ciliature ("exhalante"). Cette structure rend difficilement admissible la théorie des deux contre-courants simultanés, l'un inhalant, l'autre exhalant émise par Owen (1955). Il paraît plus vraisemblable comme le pense Morton (1983) que ces courants alternent dans le temps même si la région à bordure en brosse est en effet inhalante et la région ciliée exhalante ; il existe un certain décalage dans le temps entre l'arrivée des aliments dans les canaux et le retour vers l'intestin des résidus digérés comme l'a montré Mathers (1972).

Dans les tubules glandulaires, nous avons retrouvé les deux types cellulaires décrits par Owen (1970) : la cellule digestive responsable de la digestion intracellulaire et la cellule basophile qui serait sécrétrice. Cette dernière, chez l'huître, nous paraît présenter plutôt les caractères d'une cellule synthétisante que d'une cellule sécrétrice.

Les expériences d'alimentation contrôlée ont montré que l'animal rempissait complètement son tube digestif (phase de prise alimentaire), puis en digérait progressivement le contenu. La température influe de façon significative sur la vitesse du transit alimentaire, probablement en accélérant les battements ciliaires responsables du transport. Le raccourcissement de la durée de la digestion à température élevée affecte surtout le début de la digestion (transit des algues) et la fin (élimination des fèces). La phase de digestion proprement dite semble relativement moins affectée par la température.

Que le temps de prise de nourriture soit court (3 à 5 h) ou long (22 h, ce qui correspond dans la nature à une alimentation continue), la chronologie obtenue ne diffère pas sensiblement. Ces observations sont en accord avec le principe d'un rythme de nutrition lié à la marée chez les Bivalves intertidaux (Morton, 1977, 1983) et également en accord avec les observations des ostréiculteurs pour lesquels les huîtres creuses se nourrissent au "premier flot" (Lubet, 1978). Il paraît cependant assez surprenant que durant une partie importante de la digestion, des algues intactes demeurent dans le tube digestif (estomac et surtout intestin). Les algues pénétrant dans la glande digestive sont immédiatement attaquées, phénomène qui doit être en rapport avec la localisation des différentes enzymes impliquées dans la digestion.

Celles-ci peuvent être regroupées suivant leur mode d'action et leur rôle dans les différentes étapes de dégradation et d'assimilation des aliments. Ces derniers sont variés chez l'Huître (Lubet, 1978) : particules vivantes organiques -en majorité des algues vivantes unicellulaires-, des bactéries, des matières organiques sous forme particulaire ou soluble (1). Dans le cas précis de nos expériences, les algues utilisées sont en principe facilement digestibles : les *Dunaliella* (Chlorophycées), dépourvues de paroi ont de l'amidon pour réserve, les *Phaeodactylum* (Diatomées) possèdent une paroi faiblement silicifiée et leurs réserves sont essentiellement constituées par de la chrysolaminarine.

Les α et β glucanases digèrent la paroi des algues (cellulose) et leurs substances de réserve (amidon, laminarine). Nous avons constaté la présence de glucanases dans tout l'appareil digestif. En ce qui concerne l'amylase, nous avons observé des variations dans son activité et de sa localisation au cours de la digestion, ce qui pourrait expliquer le délai parfois assez long de l'attaque des algues.

Morton (1983) lie exclusivement la digestion extracellulaire à l'action du stylet cristallin : action mécanique par broyage contre le bouclier gastrique (Yonge, 1923) mais surtout chimique. En effet, les différentes glucanases que nous avons décelées histochimiquement avaient été mises en évidence par les auteurs dans des extraits du stylet cristallin de Bivalves : l'amylase (voir la revue de Morton, 1983), la cellulase et la laminarinase (Newell, 1953 ; Sova *et al.*, 1969 ; Schallenberger *et al.*, 1974 ; Jacober *et al.*, 1980 et revue de Morton, 1983). Le stylet cristallin libérerait ces enzymes par dissolution de sa partie antérieure au début de la digestion (Morton, 1977, 1983). Toutefois, selon Bernard (1973), le stylet entraînerait, comme une vis sans fin, de fines particules à la surface de l'estomac, vers l'arrière et non vers l'avant ; ces particules seraient absorbées par l'épithélium stomacal. Quelle que soit la manière dont fonctionne le stylet cristallin, celui-ci, structure amorphe, ne peut sécréter les enzymes qu'il contient. Des glucanases ont en effet été détectées dans des extraits des diverticules digestifs et du bouclier gastrique (Morton, 1983). Nos recherches montrent que des activités glucanasiques sont présentes dans tous les épithéliums de l'appareil digestif, les plus intenses étant généralement localisées dans les diverticules digestifs, ce qui corrobore le fait que les algues pénétrant dans les canaux principaux soient immédiatement attaquées. En début de digestion, il semble qu'il y ait sécrétion d'amylase vers l'estomac. D'ailleurs à ce moment, nous n'avons pas localisé de glucanases à l'intérieur du stylet cristallin mais seulement à sa surface. Il nous semble donc qu'en début de digestion, dans le cas de nos expériences, le stylet cristallin ne soit pas chargé d'enzymes mais agisse plutôt par son action mécanique. Il incorporerait ensuite des enzymes sécrétées par la paroi stomacale (Arnould & Bouchez, 1978 ; Mathers, 1973) et aussi par la glande digestive, ce qui expliquerait le délai d'attaque assez long des algues

(1) Une grande partie des petites molécules en solution dans l'eau de mer est directement absorbée et assimilée par la branchie ou le manteau (Pequignat, 1973 ; Morton, 1983).

dans l'estomac. Prieur (1981) avait d'ailleurs noté l'incorporation de particules à l'intérieur de la tige cristalline au cours de la digestion. La digestion des glucides se poursuit de manière intracellulaire sous l'action d'enzymes lysosomales dans les cellules de la glande digestive, mais aussi probablement dans celles de l'estomac.

Les activités lipasiques n'ont pu être localisées dans ce travail ; cela est probablement dû aux méthodes employées dont aucune n'est satisfaisante et qui ont donné des résultats négatifs chez les Bivalves (Palmer, 1979). En fait, une activité lipasique a pu être mise en évidence par d'autres méthodes au niveau du stylet cristallin (George, 1952 ; Palmer, 1979) et, quelle que soit son origine, elle doit agir dans l'estomac grâce aux propriétés émulsifiantes du stylet.

Dans notre travail, l'activité protéasique, toujours faible, a pu être uniquement localisée dans les tubules de la glande digestive, surtout en fin de digestion, et très ponctuellement dans l'intestin. La chymotrypsine et la trypsine n'ont pu être détectées par la méthode rapide "api-zym". Ces observations sont en accord avec celles de Reid (1968) qui attribue une très faible activité de type trypsique aux Gastrotriteia. La méthode histochimique de détection de la chymotrypsine (Lagunoff, 1967) a donné des résultats positifs : en fait, ces résultats coïncident avec ceux de la localisation des estérases et non pas avec celle de l'activité protéolytique. Comme le substrat utilisé (propionate de Naphtol AS) est susceptible d'être attaqué par les estérases, nous pensons que l'activité révélée est plutôt celle d'une estérase que d'une protéase.

La digestion des protéines semblerait plutôt être réalisée par des enzymes à optimum de pH acide comme l'indique la fig. 4, ce qui d'ailleurs se trouve en accord avec les résultats des différents auteurs ayant travaillé sur les peptidases de Bivalves. Une grande partie de cette digestion paraît s'effectuer de manière intracellulaire. Les enzymes lysosomales doivent donc bien être représentées.

La phosphatase acide a été localisée avec la plus forte activité au niveau des tubules digestifs ; les variations de sa localisation suivent bien le cheminement de la digestion intracellulaire (fig. 6). Une activité très importante est aussi présente dans l'épithélium stomacal, l'épithélium intestinal paraissant moins actif. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Mathers (1973) chez Crassostrea angulata. L'acétyl-glucosaminidase a la même localisation, très probablement lysosomale, ce qui s'accorde avec les résultats de Moore et al. (1980). L'activité glucosaminidasique, très importante et présente au niveau du bouclier gastrique nous paraît peut-être liée à des phénomènes de remaniement cuticulaire.

Les peptidases considérées comme lysosomales (Cathepsines C et D, D.A.P. I et II) ont été détectées en fait, non pas dans les tubules mais, au niveau des régions à bordure en brosse très développées (région "inhalante" des canaux principaux, canaux secondaires) et dans la branche ascendante de l'intestin, c'est-à-dire avec la même localisation que des peptidases considérées comme membranaires (Amino-peptidase M). Cette localisation coïncide avec celle de la phosphatase alcaline, enzyme membranaire toujours liée aux sites de transports actifs. Ces résultats peuvent s'expliquer par un manque de spécificité des méthodes : l'aminopeptidase M pourrait être responsable des résultats positifs obtenus pour la D.A.P. I et II. Il se pourrait également que ces enzymes aient une localisation différente chez les Invertébrés chez lesquels ces techniques n'ont jamais été utilisées. Si l'on excepte le problème posé par les enzymes lysosomales, il reste qu'il existe au niveau des bordures en brosse des canaux digestifs et dans l'épithélium stomacal, des enzymes membranaires (peptidases, phosphatases alcalines) qui doivent être en rapport avec l'absorption. Nos résultats s'accordent avec ceux de Janssen (1981).

En regroupant les résultats de nos différentes expériences, nous proposons le schéma provisoire suivant de la digestion (fig. 8). Les huîtres remplissent complètement leur tube digestif dès le premier apport de nourriture, dans les protocoles expérimentaux réalisés mais aussi vraisemblablement dans la nature avec le premier "flot" de la marée. Un flux particulaire pénètre simultanément dans l'estomac et dans les canaux de la glande digestive par voie inhalante. Toutes les substances directement assimilables sont alors absorbées grâce aux enzymes membranaires des cellules à bordure en brosse. L'attaque des parois algales se produit dès l'entrée dans les canaux digestifs sous l'action des glucanases particulièrement actives à ce niveau, puis progressivement dans l'estomac grâce à l'action mécanique puis chimique du stylet cristallin, à l'aide des enzymes sécrétées par la paroi stomacale et la glande digestive. Les aliments ayant subi la digestion stomacale pourraient être à leur tour dirigés vers la glande digestive ou bien digérés et absorbés par la paroi stomacale.

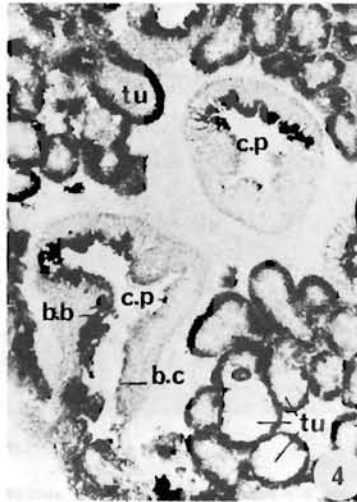
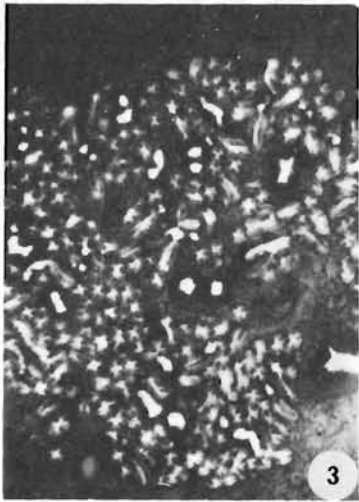
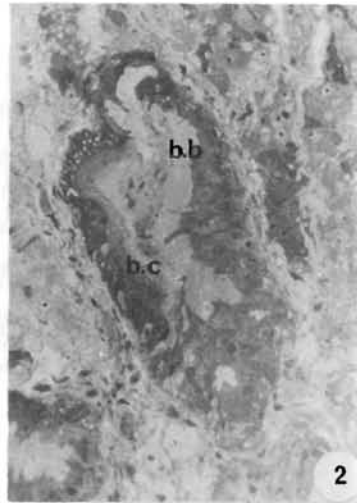
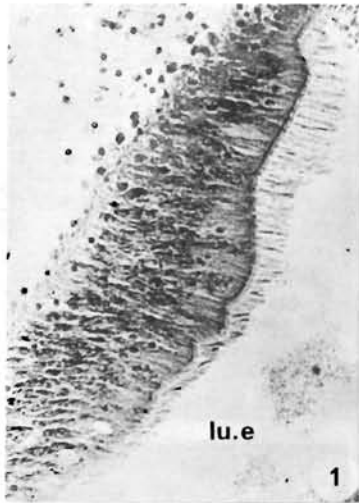
Les résidus de la digestion provenant de la glande digestive, (courant exhalant provoqué par la région ciliée des canaux principaux) et de l'estomac pénètrent dans l'intestin. Dans cet organe l'absorption et la digestion intracellulaire se poursuivent surtout dans sa partie proximale ou branche ascendante. Les fèces sont formés dans le rectum avec probablement une voie préférentielle pour les résidus fins au niveau du sillon principal.

De nombreux points de ce schéma devront être approfondis au cours de recherches ultérieures. Il sera important de préciser les rythmes et modalités du transit dans des conditions naturelles (élevages d'huîtres en surélévation sur les plages ou élevages en suspension en Méditerranée). Par ailleurs, il conviendra de préciser le rôle exact des enzymes liées au stylet cristallin dans la digestion intrastomacale. Enfin, la localisation des peptidases intracellulaires devra être précisée par des recherches ultrastructurales. Il serait aussi très important que des recherches associant des microbiologistes puissent apporter des informations sur les rôles de la flore bactérienne présente dans le tractus digestif. En effet, Prieur (1981) a montré que les Bivalves effectuaient une sélection parmi la microflore bactérienne présente dans l'eau de mer et que des bactéries pouvaient se reproduire dans le tractus digestif. Selon cet auteur, des bactéries pourraient émettre des enzymes extracellulaires (protéases) dans l'intestin, ces dernières pouvant jouer également un rôle actif dans les phénomènes de la digestion.

-
- Abé M., Kramer S.P., Seligman A.M., 1964 - The histochemical demonstration of pancreatic like lipase and comparison with the distribution of esterase. J. Histochem. Cytochem., 12, p. 364-383.
- Arnould C., 1976 - Chemical composition of the gastric shield of a Bivalve, Zyrrhea crispata, and of the teeth of the gizzard of a Gastropod Opisthobranch, Aplysia punctata. Biochem. System. Ecol., 4, p. 117-121.
- Arnould C., Bouchez-Decloux N.J., 1978 - Histochemical methods for the localization of cellulase, chitinase, and laminarinase. Application to the gastric shield of the bivalve Mollusc Scrobicularia plana. Histochem., 56, (1) p. 45-54.
- Arnould C., Jeuniaux C., 1982 - Les enzymes hydrolytiques du système digestif chez les Crustacés Pagurides. Cah. Biol. Mar., XXIII, p. 89-103.
- Bernard F.R., 1973 - Crystalline style formation and function in the oyster Crassostrea gigas (Thunberg, 1795). Ophelia, 12, p. 159-170.

- Bernfeld P., 1955 - Amylases α et β . In : Methods enzymology. - Colwick SP et Kaplan N.O., Edit. - New York : Academic Press, Vol. 1, p. 149-150.
- Boucaud-Camou E., 1974 - Localisation d'activités enzymatiques impliquées dans la digestion chez Sepia officinalis L. Arch. Zool. exp. gén., 115, p. 5-27
- Chretien M., 1965 - Mise en évidence d'une activité protéasique dans la sous-maxillaire de Souris. C.R. Acad. Sci. Paris, 261, p. 5633-5636.
- Daoust R., 1957 - Localization of deoxyribonuclease activity in tissue sections. A new approach to the histochemistry of enzymes. Exp. Cell. Res., 12, p. 203.
- Daoust R., 1965 - Histochemical localization of enzyme activities by substrate film methods : ribonucleases, deoxyribonucleases, proteases, amylase and hyaluronidase. Int. Rev. Cytol., 18, p. 191-221.
- Gabe M., 1968 - Techniques histologiques. Paris : Masson et Cie.
- George W. C., 1952 - The digestion and absorption of fat in Lamellibranchs. Biol. Bull., 102, p. 118-127.
- Graf M., Leemann U., Ruch F., Strauli P., 1979 - The fluorescence and bright field microscopic demonstration of cathepsin B in human fibroblasts. Histochemistry, 64, (3)
- Jacober L.F., Rice C., Rand JR A.G., 1980 - Characterization of the carbohydrate degrading enzymes in the surf clam crystalline style. Journal of Food science, 45, p. 381-385.
- Janssen H.H., 1981 - Zur enzymhistochemie und ultrastruktur von Magen und Drüsenkanalen bei verschiedenen Muscheln. Zool. Anz., 207, (1-2), 54-69.
- Lagunoff D., 1967 - Histochemistry of proteolytic enzymes. Methods archiv. Exp. Pathol. Switz, 2, p. 55-77.
- Lojda Z., Gossrau R., Schiebler T.H., 1979 - Enzyme Histochemistry. A laboratory manual. Berlin, Heidelberg, New York : Springer-Verlag.
- Lowe D.M., Moore M.N., Bayne B.L., 1982 - Aspects of gametogenesis in the marine mussel Mytilus edulis L., J. Mar. Biol. Ass. U.K., 62, p. 133-145.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., 1951 - Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275.
- Lubet P.E., 1978 - Nutrition des Lamellibranches (Huîtres, Moules). Oceanis, 4, p. 23-54.
- Mathers N.F., 1972 - The tracing of natural algal food labelled with a carbon 14 isotope through the digestive tract of Ostrea edulis L. Proc. Malacol. Soc. London, 40, p. 115-124.
- Mathers N.F., 1973 - A comparative histochemical survey of enzymes associated with the processes of digestion in Ostrea edulis and Crassostrea angulata (Mollusca : Bivalvia). J. Zool. Lond., 169, p. 169-179.
- Mazia D., Brewer P.A., Alpert M. 1953 - The cytochemical staining and measurement of protein with Mercuric bromophenol blue. Biol. Bull., 104, p. 56-67.
- Mc Donald J.K., Callaman P.X., Ellis S., Smith R.E., 1971 - Polypeptides degradation by dipeptidyl aminopeptidase I (Cathepsin C) and related peptidase in tissue proteinases. Edit. by Barret A.S. et Dingle J.Y., p. 69-107.

- Moore M.N., Koehn R.K., Bayne B.L., 1980 - Leucine aminopeptidase (Aminopeptidase I) N-Acetyl- β -hexosaminidase and lysosomes in the Mussel Mytilus edulis L. in response to salinity changes. J. Exper. Zool., 214, (3), p. 239-292.
- Morton B.S., 1977 - The tidal rhythm of feeding and digestion in the pacific oyster, Crassostrea gigas (Thunberg). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 26, p. 135-151.
- Morton B., 1983 - Feeding and digestion in Bivalvia. In : The Mollusca, Vol. 5, Physiology, Part. 2, Edit. by A.S.M. Saleuddin, Karl M. Wilbur. New York : Academic Press.
- Newell B.S., 1953 - Cellulolytic activity in the Lamellibranch crystalline style. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 32, p. 491-495.
- Owen G., 1955 - Observations on the stomach and digestive diverticula of the Lamellibranchia. I. The Anisomyaria and Eulamellibranchia. Quart. J. Micr. Sci., 96, (4), p. 517-537.
- Owen G., 1970 - The fine structure of the digestive tubules of the bivalve Cardium edule. Philos. Trans. R. Soc. London, B, 258, (822), p. 245-260
- Palmer, Robert E., 1979 - A histological and histochemical study of digestion in the bivalve Arctica islandica L. Biol. Bull., 156, (1), p. 115.
- Pequignat E., 1973 - A kinetic and autoradiographic study of the direct assimilation of amino-acids and glucose by organs of the mussel, Mytilus edulis. Mar. Biol., 19, p. 227-244.
- Plantevin G., Nardon P., 1972 - Utilisation d'une microméthode de détection pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'insectes. Ann. Zool. Ecol. Animale, 4, (2), p. 229-248.
- Prieur D., 1981 - Les relations entre Mollusques Bivalves et bactéries hétérotrophes en milieu marin. Etude analytique et expérimentale. Thèse : Sc. nat. Brest : Sér. C.
- Reid G.B., 1968 - The distribution of digestive tract enzymes in Lamellibranchiate bivalves. Comp. Biochem. Physiol., 24, 3, p. 727-744.
- Rinderknecht M., Geokas M.C., Silverman F., 1968 - A new ultrasensitive method for the determination of proteolytic activity. Clin. Chim. Acta, 27, p. 197-203.
- Schallenger R.S., Searles C., and Lewis, B.A., 1974 - Laminarinase activity in the crystalline style of the surf clam (Spissula solidissima). Expérimenta, 30, p. 597.
- Shear M., Pearse A.G.E., 1963 - A starch substrate film method for the histochemical localization of amylase. Exp. Cell Res., 32, 1, p. 174-176.
- Smith R.E., Van Frank R. M., 1975 - The use of amino acid derivatives of methoxy- β -naphthylamide for assay and subcellular localization of tissue proteinases. Lysosomes in Biology and Pathology, Edit. Dingle J.T. ; North-Holland Publishing Co, Amsterdam, 4, p. 193-249.
- Sova .V., Elyakova L.A., and Vaskivsky V.E., 1969 - The distribution of laminarinase in marine invertebrates. Comp. Biochem. Physiol., 32, p. 459.
- Yonge, C.M., 1923 - Studies on the comparative physiology of digestion. I : The mechanism of feeding, digestion, and assimilation in the lamellibranch, Mya, Brit. J. Exp. Biol. 1, p. 15-63.



- PLANCHE 1 -

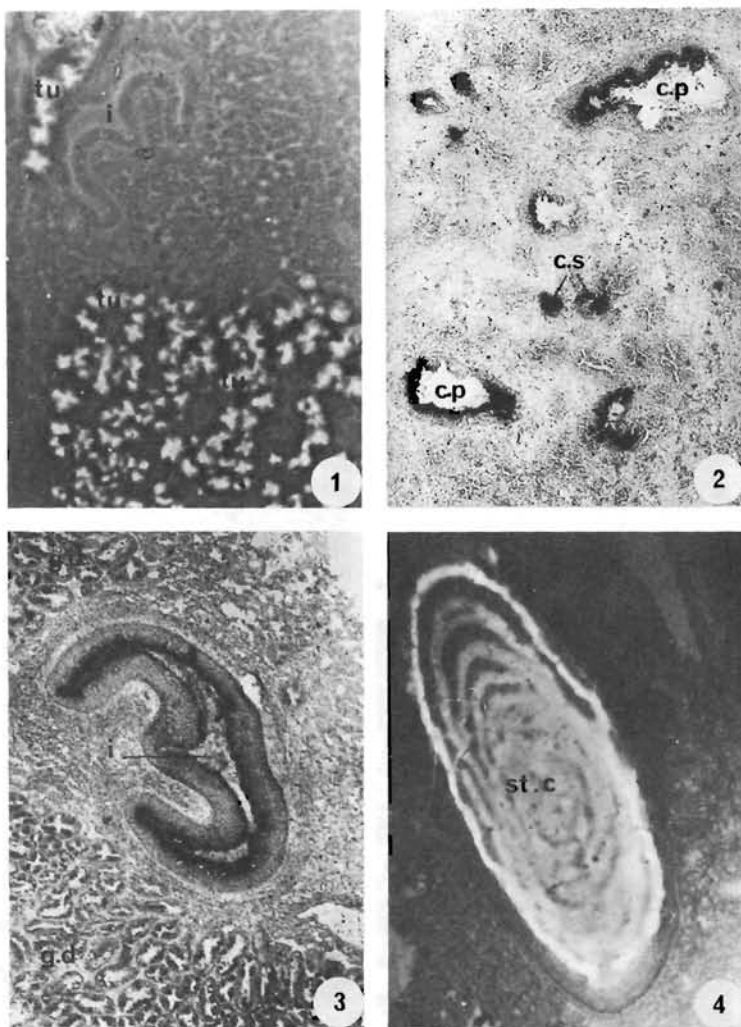
Figure 1 : Epithélium cilié de l'estomac. Trichrome de Prenant-Gabe (x 450).

Figure 2 : Coupe transversale semi-fine d'un canal principal de la glande digestive. On distingue la région à bordure en brosse (bb) et la région à bordure ciliée (bc). Bleu de toluidine (x 450).

Figure 3 : Mise en évidence d'une activité amylasique (plages claires) au niveau de la glande digestive. Film d'amidon coloré au lugol. (x 32).

Figure 4 : Mise en évidence d'une activité phosphatasique alcaline (précipité noir) à la base des tubules et au niveau de la bordure en brosse des canaux de la glande digestive. Phosphate d' α naphthyle couplé au bleu solide BB (x 70).

bb : bordure en brosse ; bc : bordure ciliée ; cp : canal principal ;
lu e : lumière de l'estomac ; tu : tubule.



- PLANCHE II -

Figure 1 : Mise en évidence de l'activité protéasique (plages claires) au niveau des tubules de la glande digestive. On notera l'absence d'activité dans l'intestin (i). Film de gélatine noirci. (x 26).

Figure 2 : Mise en évidence d'une activité peptidasique (D.A.P. II, précipité noir) dans la région à bordure en brosse des canaux de la glande digestive. Lysyl-alanine MNA couplé au bleu solide B. (x 154).

Figure 3 : Mise en évidence d'une activité peptidasique (aminopeptidase M, précipité noir) au niveau de la bordure apicale de l'épithélium intestinal. Leucyl MNA couplé au bleu solide B. (x 30).

Figure 4 : Coupe transversale du stylet cristallin : l'activité amylasique est distribuée de manière concentrique. 4 h. 30 de digestion. Film d'amidon coloré au lugol. (x 30).

cp : canal principal ; cs : canal secondaire ; gd : glande digestive ;
i : intestin ; st.c : stylet cristallin ; tu : tubule.