

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES
DU REVÊTEMENT CUTICULAIRE DU PREMIER GÉSIER
D'*APLYSIA PUNCTATA* CUV.
(MOLLUSQUE OPISTHBRANCHE) ET HOMOLOGIE
AVEC LE BOUCLIER GASTRIQUE DES BIVALVES

par

Chantal Arnould et Charles Jeuniaux

Université de Liège, Institut Ed. Van Beneden,
Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie animales,
quai Van Beneden, 22 B-4020 Liège (Belgique).

Résumé

Le revêtement cuticulaire du premier gésier d'*Aplysia punctata* se compose d'une mince cuticule anhydre unissant de massives plaques gésiales. Les plaques sont constituées d'une matrice chitinoprotéique non sclérisée, traversée par un grand nombre de fins prolongements cellulaires.

Sur la base des critères d'homologie définis par Remane et prenant en considération leur grande similitude de composition chimique, nous concluons que les plaques gésiales des Opisthobranches Anaspidés sont homologues du bouclier gastrique des Bivalves et de la cuticule gastrique des Protobranches. Ces différentes formations cuticulaires interviennent dans le phénomène de la sécrétion d'enzymes dans la cavité digestive.

Introduction

Chez certains Gastéropodes Opisthobranches, des formations cuticulaires très particulières dénommées plaques ou dents gésiales recouvrent la portion distale de l'œsophage transformée en gésier. Dans l'ordre des Anaspidés, ces plaques gésiales sont des structures de nature chitineuse (Howells, 1942; Hashimoto et al., 1953; Arnould, 1976) et leur grande richesse en hydrolases du type glucidase a été maintes fois signalée (Endo, 1934; Hashimoto et al., 1949, 1951; Stone et al., 1958; Yokoe et al., 1964 et Arnould, 1976). Toutefois, ce fait pour le moins singulier n'a, jusqu'à ce jour, fait l'objet d'aucune interprétation. Il est intéressant de remarquer que dans le bouclier gastrique des Bivalves ainsi que dans la cuticule gastrique du Protobranch *Nucula sulcata*, autres structures chitineuses de l'entéron des Mollusques, on observe également la présence d'enzymes digestives (Kubomura, 1959; Halton et al., 1968; Mathers, 1973; Arnould, 1976). Dans ce cas, les auteurs pensent que les

enzymes sont secrétées par l'épithélium sous-jacent et transmises dans la cavité digestive par l'intermédiaire des fins prolongements cellulaires qui traversent toute l'épaisseur de la matrice chitinoprotéique de ces formations cuticulaires gastriques.

Dans ce travail, nous nous proposons d'apporter quelques informations sur l'organisation fondamentale du revêtement cuticulaire du premier gésier d'*Aplysia punctata* Cuv. (= *A. rosea* Rathke) dont nous avons étudié récemment la composition chimique (Arnould, 1976).

Matériel et méthodes

Les Aplysies ont été recueillies en avril 1972 à l'île Callot (Roscoff - Finistère - France). Les exemplaires endormis au $MgCl_2$ 7 p. 1000 ont été fixés au formol salé 5 p. 100 et conservés en alcool glyciné (5 volumes de glycérol pur pour 95 volumes d'alcool 70°).

L'étude histologique est basée sur l'examen de coupes microscopiques de 15 μ d'épaisseur, colorées à l'Azan selon la méthode de Heidenhain, à l'Azocarmin G (Gabe, 1968).

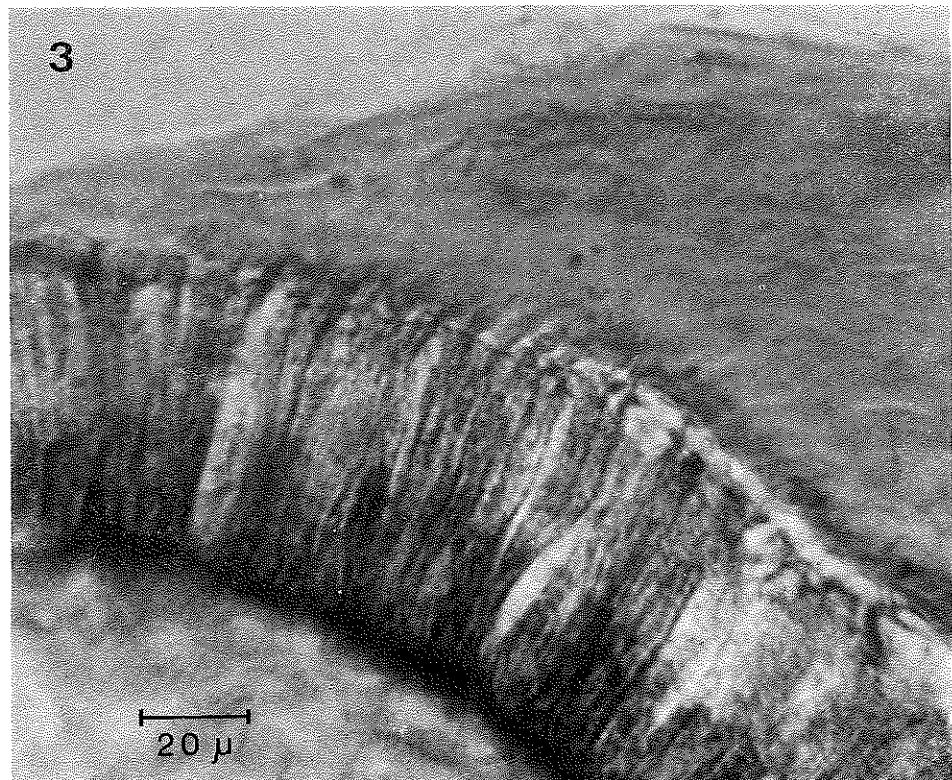
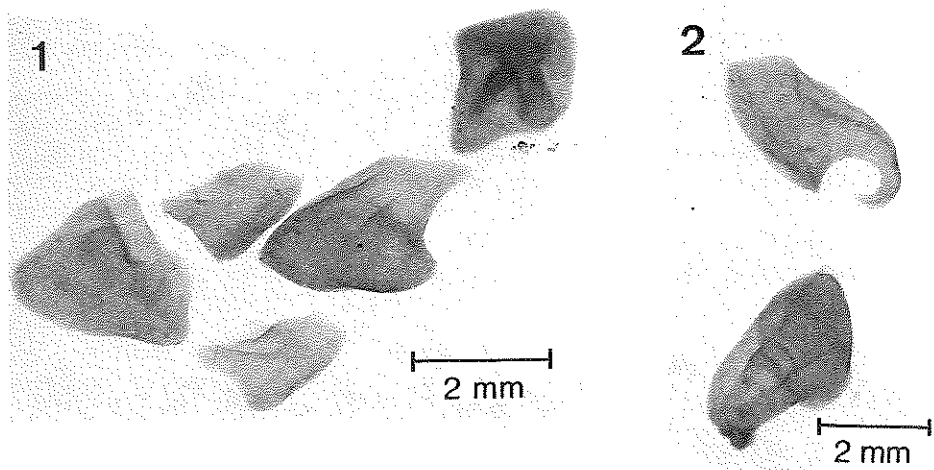
OBSERVATIONS

L'anatomie du tube digestif d'*Aplysia punctata* a été décrite par Howells en 1942. Comme chez tous les Anaspides, le gésier est double. On distingue à l'avant le premier gésier, portion globuleuse courte à paroi épaisse, et, en arrière, le second gésier couramment dénommé chambre filtrante, portion tubuleuse étroite à paroi mince (Fig. 1). Nous ne relatons, dans ce travail, que les observations réalisées au niveau du premier gésier.

1. - Observations macroscopiques.

La surface interne du premier gésier est entièrement recouverte d'une cuticule qui, à certains endroits, s'épaissit considérablement pour former de massives plaques dentiformes (Planche I, 1). Ces plaques, dont la taille croît d'avant en arrière, sont réparties en quinconce sur quatre à six rangées. Chez tous les exemplaires examinés, la rangée postérieure est toujours constituée de trois volumineuses plaques et l'avant-dernière rangée de quatre plaques légèrement plus petites. Par contre, au niveau des rangées antérieures, on observe une grande variation individuelle tant dans la disposition des plaques que dans leur nombre qui varie de 40 à 55.

Les plaques présentent une forme plus ou moins pyramidale avec leurs faces antérieures profondément entaillées de larges dépressions dans lesquelles viennent s'encaster, lors de la contraction du gésier, les pointes des dents disposées de part et d'autre sur la



C. ARNOULD et C. JEUNIAUX

Clichés J.-Cl. Bussers

PLANCHE I
Aplysia punctata

1. — Plaques gésiales isolées du premier gésier. Ces plaques de taille variable et de forme plus ou moins pyramidale ont leurs faces antérieures profondément creusées de deux sillons (coloration au Rouge Congo).
2. — Plaques gésiales postérieures isolées du premier gésier. Ces plaques ont l'allure de petit bonnet phrygien (coloration au Rouge Congo).
3. — Microphotographie d'une coupe dans la paroi du premier gésier, au niveau d'une plaque gésiale. En partant du coin inférieur gauche, on distingue le tissu conjonctif, la membrane basale, l'épithélium prismatique simple et la plage gésiale. De fins filaments cytoplasmiques s'élèvent de la surface apicale des cellules. Ces filaments parallèles se prolongent à travers toute l'épaisseur de la plaque (épaisseur de la coupe = 15 μ, coloration à l'Azan).

rangée précédente. Les sommets des trois plaques postérieures n'entrent pas en contact avec d'autres dents ; de ce fait, ils ne s'érodent pas mais au contraire s'allongent continuellement vers l'arrière en se recourbant, ce qui donne à ces plaques l'allure de petits bonnets phrygiens (Planche I, 2).

Chaque plaque repose sur une aire rhomboïdale légèrement surélevée de la paroi gésiale (le grand axe du rhomboïde est orienté antéro-postérieurement) (Fig. 1).

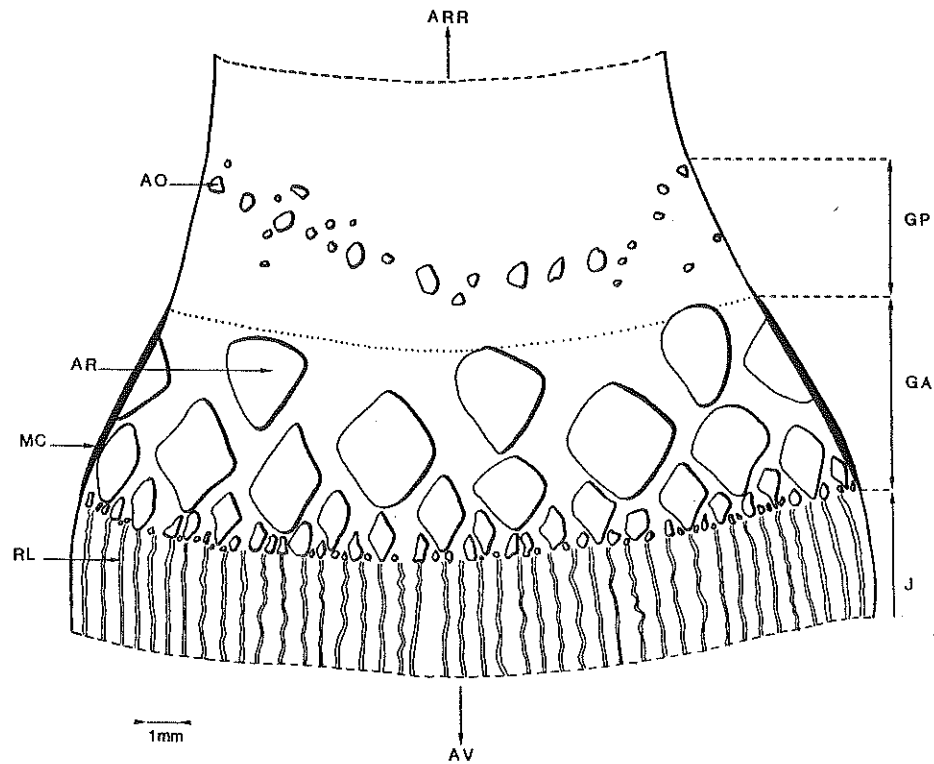


FIG. 1

Représentation schématique de l'anatomie interne du gésier d'*Aplysia punctata*, après enlèvement des plaques gésiales.

AO : aire ovoïde surélevée ; AR : aire rhomboïdale surélevée ; GA : portion antérieure du gésier ou premier gésier ; GP : portion postérieure du gésier ou chambre filtrante ; J : jabot ; MC : musculature circulaire ; RL : replis longitudinaux.

2. - Observations microscopiques.

La paroi du premier gésier est constituée de quatre assises tissulaires qui sont successivement, de l'extérieur vers la face interne, une mince gaine fibreuse, une importante couche musculaire, du tissu conjonctif et un épithélium monostratifié recouvert d'une cuticule (Fig. 2).

La musculature intrinsèque du premier gésier est fortement développée et constituée uniquement de fibres circulaires.

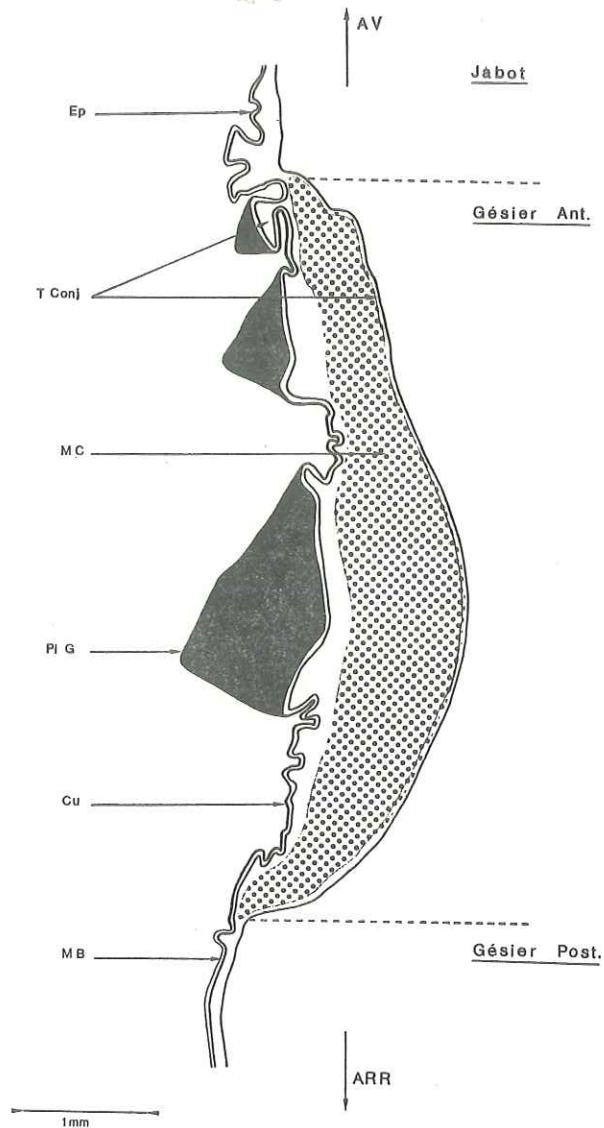


FIG. 2

Représentation schématique d'une coupe longitudinale dans la paroi du gésier d'*Aplysia punctata*.

Cu : cuticule gésiale ; Ep : épithélium ; Gésier Ant. : premier gésier ; Gésier Post. : second gésier ou chambre filtrante ; MB : membrane basale ; MC : musculature circulaire ; Pl G : plaque gésiale ; T Conj : tissu conjonctif.

Le tissu conjonctif se présente comme une couche d'épaisseur variable, formant de petits coussinets au niveau des aires rhomboïdales sur lesquelles reposent les plaques gésiales.

L'épithélium gésial qui repose sur une membrane basale bien individualisée est du type prismatique simple. Il existe toutefois des différences marquées entre l'organisation de l'épithélium des aires rhomboïdales et celle de l'épithélium sous-jacent à la mince cuticule gésiale. Ce dernier est un épithélium de revêtement de type classique. Les cellules, de petite taille, mesurent en moyenne 5μ de large et 20μ de hauteur. Elles ne présentent aucune différenciation apicale et leur surface libre est recouverte d'une cuticule anhiste de très faible épaisseur (5μ).

Au niveau des aires rhomboïdales, par contre, l'épithélium est constitué de hautes cellules cylindriques dont le pôle apical s'étire en un long filament cytoplasmique. Les cellules étroites (5μ) et hautes (60μ) sont unies entre elles à leur surface supérieure par des bandelettes obturantes ou cadre terminal. Disposés uniformément dans le tiers inférieur des cellules, les noyaux de forme atypique mais de volume constant possèdent chacun un nucléole en position centrale. Dans la zone supra-nucléaire sont confinées de très nombreuses inclusions. De la surface distale de chaque cellule s'élève un fin filament cellulaire qui pénètre dans la matrice anhiste de la plaque gésiale. Les différents filaments sont parallèles et semblent se prolonger dans toute la hauteur de la plaque (Planche I, 3).

La méthode à l'Azan colore uniformément toute la cuticule gésiale en bleu. On sait qu'après traitement à l'Azan, l'obtention d'une coloration bleue au niveau d'une structure de nature chitino-protéique indique l'absence d'un tannage quinonique des protéines (Arnould, 1973). Par conséquent, on peut conclure que la cuticule gésiale est une formation chitineuse non sclérifiée.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le revêtement cuticulaire du gésier antérieur d'*Aplysia punctata* est hétérogène ; il se compose d'une mince pellicule anhiste reliant entre elles de massives plaques gésiales. Ces plaques présentent une structure histologique double : la matrice chitino-protéique est traversée par un grand nombre de prolongements cellulaires s'élevant parallèlement à partir de l'épithélium gésial sous-jacent. Cette dualité d'organisation structurale des plaques gésiales des Anaspides a déjà été mentionnée. Howells avait observé la présence de « fibrilles extracellulaires » dans les plaques de *Cymbulia* (1936) et d'*Aplysia* (1942) et pensait qu'elles servaient à l'ancrage des plaques gésiales. Hibiya et ses collaborateurs (1953) ont signalé l'existence de nombreux petits canalicules longitudinaux au sein des plaques de *Dolabella scapula*.

L'organisation des plaques gésiales, que nous avons décrite, ressemble à celle du bouclier gastrique des Bivalves (Morton, 1969 ; Mc Quiston, 1970 ; Arnould, 1973) et à celle de la cuticule gastrique de *Nucula sulcata* (Halton et al., 1969) ; nous pensons qu'il est pos-

sible d'homologuer ces trois types de structure cuticulaire du tube digestif. En 1953, Hashimoto et Hibiya avaient déjà suggéré que les plaques gésciales de *Dolabella scapula* étaient homologues du bouclier gastrique des Bivalves mais cette hypothèse reposait sur une argumentation peu probante et n'avait jamais été renouvelée ni démontrée.

Pour établir une homologie, il convient d'utiliser les critères anatomiques et embryologiques clairement définis par Remane (1956) ; en complément, il semble que l'on puisse faire appel au critère de la composition chimique, du moins pour un court segment de l'arbre phylogénétique (Depoortere et al., 1967 ; Jeuniaux, 1975).

Ressemblances anatomiques

Le bouclier gastrique des Bivalves, la cuticule gastrique des Protobranches et les plaques gésciales des Opisthobranches Anaspides, bien que présentant une organisation morphologique macroscopique assez différente, montrent de nombreuses similitudes lorsqu'on considère leur position dans le tube digestif et leur structure fine :

a) il s'agit de formations cuticulaires recouvrant une portion de l'épithélium du tube digestif moyen ;

b) ces structures sont formées de deux constituants, un grand nombre de filaments cytoplasmiques s'élevant de l'épithélium sous-jacent et une matrice de matériel acellulaire remplissant l'espace libre entre les fins filaments cellulaires.

Identité embryologique

D'après les données bibliographiques (Drew, 1901 ; Saunders et al., 1910 ; Raven, 1958), il semble que l'épithélium sous-jacent aux formations cuticulaires qui nous intéressent dérive dans chaque cas du primordium endodermique.

Similitudes biochimiques

Bouclier gastrique et plaques gésciales sont des structures chitinoprotéiques non sclérifiées qui présentent une remarquable similitude de composition en acides aminés des protéines constitutives. Ces structures se caractérisent également par des teneurs importantes et fort voisines en chitine totale ainsi que par une proportion de chitine « libre » particulièrement élevée et qui est sensiblement identique dans les deux cas (1).

(1) La proportion de chitine « libre » (c'est-à-dire directement accessible à l'hydrolyse par une chitinase purifiée : Jeuniaux, 1964) par rapport à la chitine totale est généralement inférieure à quelque 10 p. 100 à l'exception de quelques structures particulières comme la membrane péritrophique des Insectes et la coquille de certains Mollusques (Jeuniaux, 1963).

Ces conclusions sont en partie tirées de l'étude comparée de la composition chimique des plaques gésiales d'*Aplysia punctata* et du bouclier gastrique du Bivalve *Zyrrphea crispata* (Arnould, 1976) dont les résultats quantitatifs sont résumés dans le tableau I.

TABLEAU I
Composition en chitine et en acides aminés des plaques gésiales d'*Aplysia punctata* et du bouclier gastrique de *Zyrrphea crispata* (d'après les données présentées par Arnould, 1976).

Constituant		<i>Aplysia punctata</i> Plaques gésiales	<i>Zyrrphea crispata</i> Bouclier gastrique
Chitine	Chitine totale en pourcentage du poids sec (1)	36.60	27.70
	Chitine « libre » en pourcentage du poids sec (1)	28.73	20.50
	Chitine « libre » en pourcentage de la chitine totale	78.60	73.98
Acides aminés des protéines totales	Asp (2)*	15.81	13.36
	Thr	8.07	9.09
	Ser	7.69	7.23
	Glu	5.87	8.44
	Pro	8.14	6.42
	Gly	8.28	8.75
	Ala	7.06	8.53
	Cys	7.20	5.17
	Val	6.94	6.00
	Met	1.60	1.37
	Ile	3.33	3.78
	Leu	6.59	5.91
	Tyr	5.69	3.32
Lys	3.70	3.57	
His	1.24	1.44	
Arg	2.71	2.76	

(1) Dosage quantitatif selon la méthode enzymatique de Jeuniaux (1963).

(2) Mise en évidence et dosage par la technique chromatographique de Spackman et al. (1958).

* Les résultats concernant les acides aminés sont exprimés en fraction molaire, c'est-à-dire en nombre de résidus de chaque acide aminé pour 100 résidus.

Sur la base des arguments que nous venons d'invoquer, nous pensons qu'il faut admettre que le bouclier gastrique des Bivalves, la cuticule gastrique des Protobranches et les plaques gésiales des Opisthobranches Anaspides sont des structures homologues.

Ces structures homologues remplissent des fonctions distinctes (protection dans le cas du bouclier et de la cuticule gastriques, trituration dans le cas des dents gésiales) mais aussi des fonctions identiques dans le phénomène de la digestion : elles assurent, grâce à la présence des prolongements cellulaires au sein de la matrice chitinoprotéique, la transmission vers la lumière du tube digestif des enzymes digestives sécrétées par l'épithélium sous-jacent.

Summary

The first gizzard of *Aplysia punctata* is lined by a thin inert cuticle joining a sixty of voluminous teeth. These gizzard teeth are constituted of a non sclerified chitinoproteic matrix perforated by a dense system of minute cytoplasmic filaments.

On the basis of the rules of homology clearly stated by Remane and of the great similarity of chemical composition, the teeth of the gizzard of Opisthobranchia Anaspidea appear to be homologous with the gastric shield of Bivalvia and with the gastric cuticle of Protobranchia. These different cuticular formations contain active hydrolytic enzymes and certainly play a similar function in the digestive process.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ARNOULD, CH., 1973. — Structure morphologique et histologique du bouclier gastrique de « *Zyprhea crispata* » (L.) (Bivalvia Eulamellibranchia). *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*, 103, pp. 281-291.
- ARNOULD, CH., 1976. — Chemical composition of the gastric shield of a Bivalve, *Zyprhea crispata* and of the teeth of the gizzard of a Gastropod Opisthobranch, *Aplysia punctata*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 4, pp. 117-121.
- DEPOORTÈRE, H. et MAGIS, N., 1967. — Mise en évidence, localisation et dosage de la chitine dans la coque des œufs de *Brachionus leydigii* Cohn et d'autres Rotifères. *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*, 97, pp. 187-195.
- DREW, G., 1901. — The life-history of *Nucula delphinodonta*. *Quart. J. Micr. Sc.*, 44, pp. 313-391.
- GABE, M., 1968. — Techniques histologiques. Masson et Cie, éd. Paris.
- HALTON, D.W. and OWEN, G., 1968. — The fine structure and histochemistry of the gastric cuticle of the Protobranchiate Bivalve, *Nucula sulcata* Bronn. *Proc. Malac. Soc. London*, 38, pp. 71-81.
- HASHIMOTO, Y. and HIBIYA, T., 1953. — Comparative studies on the stomacal plates and crystalline style - III. Chemical constituents of the stomacal plates of *Dolabella scapula*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 19, pp. 5-7.
- HASHIMOTO, Y., MATSUMOTO, S. and HIBIYA, T., 1951. — Comparative studies on the stomacal plates and crystalline style - I. On the enzymes of the stomacal plates in an Opisthobranch, *Dolabella scapula*. *Bull. Jap. Soc. Sc. Fish.*, 17, pp. 41-46.
- HASHIMOTO, Y., and ONOMA, K., 1949. — On the digestion of higher carbohydrates by Mollusca. *Bull. Jap. Soc. Sc. Fish.*, 15, pp. 253-258.
- HIBIYA, T., IWAI, E., and HASHIMOTO, Y., 1953. — Comparative studies on the stomacal plates and crystalline style - II. Structure of stomacal plates of *Dolabella scapula*. *Bull. Jap. Soc. Sc. Fish.*, 19, pp. 1-4.
- HOWELLS, H., 1936. — The anatomy and histology of the gut of *Cymbulia peronii* (Blainville). *Proc. Malac. Soc. London*, 22, pp. 62-72.
- HOWELLS, H., 1942. — The structure and function of the alimentary canal of *Aplysia punctata*. *Quart. J. Micr. Sc.*, 83, pp. 357-397.
- JEUNIAUX, CH., 1963. — Chitine et chitinolyse, un chapitre de la biologie moléculaire. Masson et Cie, éd. Paris.
- JEUNIAUX, CH., 1964. — Chitine « libre » et chitine « masquée » dans les structures squelettiques d'Invertébrés. *Arch. Intern. Physiol. Bioch.*, 72, pp. 329-330.
- JEUNIAUX, CH., 1975. — Principes de Systématique biochimique et application à quelques problèmes particuliers concernant les Aschelminthes, les Polychètes et les Tardigrades. *Cah. Biol. Mar.*, 16, pp. 597-612.
- KUBOMURA, K., 1959. — The gastric shield of a bivalve mollusk *Meretrix meretrix*. *Sc. Rep. Saitama Univ. Ser. B*, 3, pp. 153-159.
- 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., London*, 169, pp. 169-179.

- MC QUISTON, R.W., 1970. — Fine structure of the gastric shield in the lamelli-branch Bivalve, *Lasaea rubra* (Montagu). *Proc. Malac. Soc. London*, 39, pp. 69-74.
- MORTON, B., 1969. — Studies on the biology of *Dreissena polymorpha* Pall. I. General anatomy and morphology. *Proc. Malac. Soc. London*, 38, pp. 301-321.
- RAVEN, C.P., 1958. — Morphogenesis. The analysis of Molluscan development. *Pergamon Press*. New York.
- REMANE, A., 1956. — Die Grundlagen des natürlichen Systems, der vergleichenden Anatomie und der Phylogenetik. Geest and Portig, Leipzig.
- SAUNDERS, A.M.C., and POOLE, M., 1910. — The development of *Aplysia punctata*. *Quart. J. Micr. Sc.*, 55, pp. 497-540.
- SPACKMAN, D.H., STEIN, W.H. and MOORE, S., 1958. — Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, 30, pp. 1190-1206.
- STONE, B.A. and MORTON, J.E., 1958. — The distribution of cellulases and related enzymes in Mollusca. *Proc. Malac. Soc.*, 33, pp. 127-141.
- YOKOE, Y. and YASUMASU, I., 1964. — The distribution of cellulase in Invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 13, pp. 323-338.