THÈSE
Présentée devant
L'Université des Antilles et de la Guyane

Pour l'obtention du
Diplôme de DOCTORAT

Par
Jean-Marie VOLLAND

INTERACTION DURABLE STROMBIDAE – SPOROZOAIRES ET FONCTIONNEMENT DE L'ORGANE HÔTE DE LA RELATION : LA GLANDE DIGESTIVE

Soutenue le 12 novembre 2010

Composition du jury :

Mme ALDANA ARANDA Dalila, Docteur, H.D.R. - CINVESTAV Mérida	Co-directrice
M BUSTAMANTE Paco, Professeur - Université de La Rochelle	Rapporteur
M GROS Olivier, Professeur - Université des Antilles et de la Guyane	Directeur
M MANSOT Jean-Louis, Professeur - Université des Antilles et de la Guyane	Examinateur
M MATHIEU Michel, Professeur - Université de Caen Basse-Normandie	Rapporteur

ICONOGRAPHIE

THÈSE

Présentée devant

L'Université des Antilles et de la Guyane

Pour l'obtention du

Diplôme de DOCTORAT

(Spécialité Biologie des Organismes Marins)

Par

Jean-Marie VOLLAND

INTERACTION DURABLE STROMBIDAE – SPOROZOAIRES ET FONCTIONNEMENT DE L'ORGANE HÔTE DE LA RELATION : LA GLANDE DIGESTIVE

Soutenue le 12 novembre 2010

Composition du jury :

Mme ALDANA ARANDA Dalila, Docteur, H.D.R. - CINVESTAV Mérida	Co-directrice
M BUSTAMANTE Paco, Professeur – Université de La Rochelle	Rapporteur
M GROS Olivier, Professeur - Université des Antilles et de la Guyane	Directeur
M MANSOT Jean-Louis, Professeur - Université des Antilles et de la Guyane	Examinateur
M MATHIEU Michel, Professeur – Université de Caen Basse-Normandie	Rapporteur

ICONOGRAPHIE

PLANCHE 1

Coquilles des neufs espèces de Gastéropodes étudiées

A : *Lambis lambis*, Linnaeus, 1758. Les 2 individus ont été collectés dans l'archipel du Vanuatu dans l'océan Pacifique.

***B** : Strombus costatus,* Gmelin, 1791. Environ 25 individus ont été collectés sur divers sites autour de la Guadeloupe.

C : *Strombus gallus,* Linnaeus, 1758. Un unique individu a été collecté en Guadeloupe.

D *: Strombus galeatus,* Swainson 1823. Les 2 individus ont été collectés sur la côte pacifique du Mexique.

E *: Strombus gigas,* Linnaeus, 1758. Environ 25 individus ont été collectés sur divers sites autour de la Guadeloupe.

F *: Strombus pugilis*, Linnaeus, 1758. Environ 40 individus ont été collectés sur divers sites autour de la Guadeloupe et sur la côte ouest de l'Etat de Campeche au Mexique.

G *: Strombus raninus,* Gmelin, 1791. Un unique individu a été collecté en Guadeloupe.

H *: Marisa cornuarietis*, Linnaeus, 1758. Plus de 13 individus de ce Gastéropode d'eau douce ont été collectés dans divers sites en Guadeloupe.

I *: Pomacea glauca*, Linnaeus, 1758. Plus de 15 individus de ce Gastéropode d'eau douce ont été collectés dans divers sites en Guadeloupe.

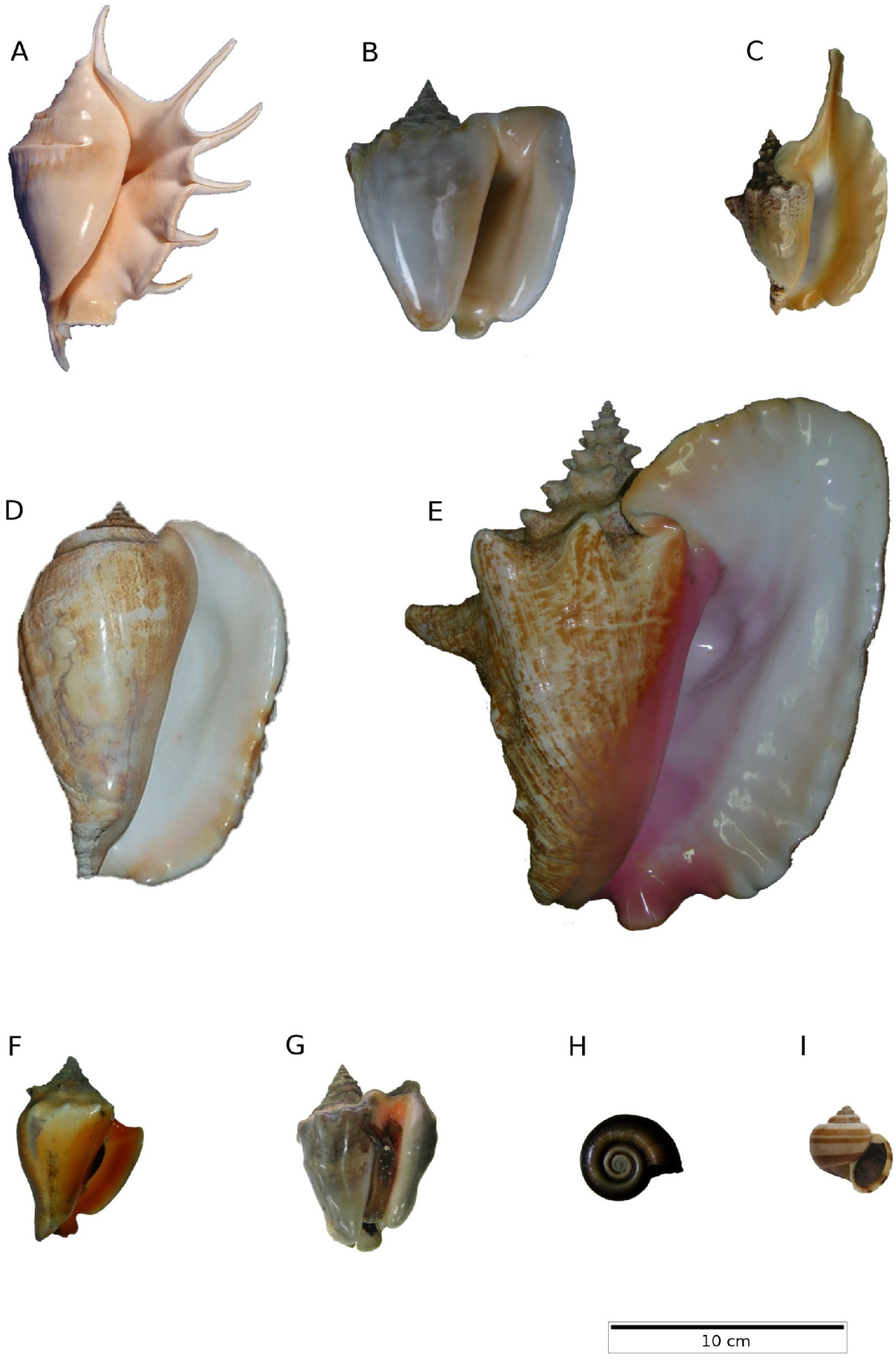

A
B
C
D
E
F
G
H
I
10 cm

PLANCHE 2

Présentation de la glande digestive des Strombidae

A : Anatomie macroscopique de *Strombus gigas* sorti de sa coquille. La glande digestive (**double flèche**) est en position terminale. Elle est recouverte par la gonade, ici de couleur orange puisqu'il s'agit d'un mâle. **M**, manteau ; **O**, opercule ; **Pe**, pénis ; **Pi**, pied ; **Pr**, proboscis.

B : Coupe transversale de la glande digestive de *S. gigas* observée à la loupe binoculaire. Le grand canal primaire (**CP**), au centre, est connecté aux canaux secondaires, plus petits, dispersés dans le reste de la glande. Le canal primaire est connecté à l'estomac.

C : Coloration histologique de la glande digestive de *S. gigas* faisant apparaître de nombreux tubules digestifs dont la lumière (**L**) communique parfois avec celle d'un canal secondaire (**flèche à double sens**). Les symbiotes Sporozoaires (**flèches**) apparaissent sous la forme de petits points marron. Ici, ils sont présents dans tous les tubules digestifs. **CS**, canal secondaire.

D : Coupe semi-fine de la glande digestive de *S. gallus* centrée sur un canal secondaire (**CS**). Le contenu du canal est composé de particules fines dans la partie gauche. La partie droite est remplie d'un contenu plus grossier et hétérogène d'origine différente. L'épithélium de la paroi du canal est différent dans ces deux parties. Notons que certaines cellules épithéliales bourgeonnent au pôle apical (**flèches**) et l'on observe un phénomène de sécrétion apocrine.

E : Représentation schématique d'un tubule digestif de Strombidae en coupe transversale (ce travail). Deux blocs de cellules digestives (**CD**) se font face. Chaque cellule digestive contient un ou deux gros grains (**flèche**). Les cellules cryptiques (**CC**) sont intercalées entre les cellules vacuolaires (**CV**) qui contiennent les Sporozoaires (**S**). **L**, lumière du tubule.

F, G : Observations histologiques de tubules digestifs de *S. gigas* composés des trois types de cellules: les cellules digestives (**CD**), les cellules vacuolaires (**CV**) et les cellules cryptiques (**CC**). Les Sporozoaires (**S**) sont localisés dans les cellules vacuolaires. Les cellules digestives sont caractérisées par la présence de grains positifs au bleu alcian (**flèches**). **Tête de flèche**, noyau des cellules digestives. **L**, lumière du tubule.

H : Observation histologique montrant partiellement deux tubules digestifs de *S. gigas*. Les symbiotes sont regroupés sous forme de petits agrégats. On note la présence d'un grand nombre de petites sphères brunes (**têtes de flèche blanche**) correspondant à un stade de développement des symbiotes présents chez certains hôtes et absents chez d'autres. **Tête de flèche noire**, noyau des cellules digestives ; **CD**, cellule digestive ; **Flèche,** « grain bleu » des cellules digestives ; **S**, Sporozoaire.

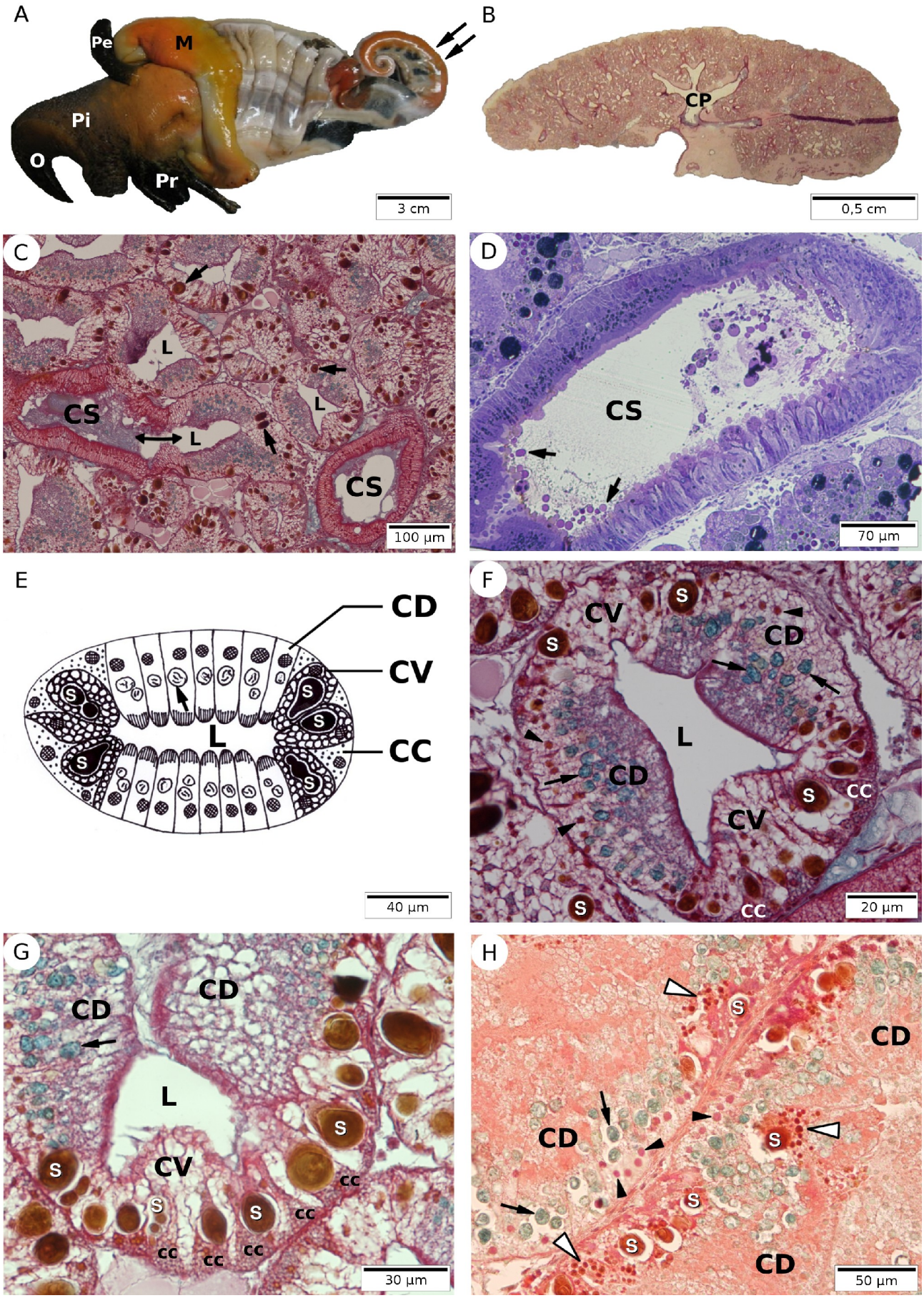

A
Pe
M
Pi
O
Pr
3 cm
B
CP
0,5 cm
C
L
CS
L
L
CS
100 µm
D
CS
70 µm
E
CD
CV
CC
L
S
40 µm
F
CV
S
CD
L
CD
S
CC
CV
S
CC
20 µm
G
CD
CD
L
S
S
CV
CC
S
S
CC
CC
CC
CC
30 µm
H
S
CD
CD
S
S
S
CD
50 µm

PLANCHE 3

Présentation des trois types cellulaires des tubules digestifs de *S. gigas*

A : Coupe semi-fine d'un tubule digestif de *S. gigas* colorée au bleu de toluidine. Trois blocs de cellules digestives (**CD**) avec leurs grains caractéristiques (**étoiles**) sont séparés par des groupes de cellules vacuolaires (**CV**) et de cellules cryptiques (**croix**). Certains symbiotes Sporozoaires (**têtes de flèche**) ont été déchirés par le passage du couteau de verre lors de la coupe. **L**, lumière du tubule.

B : Coupe semi-fine de la glande digestive de *S. gigas* montrant un groupe de cellules digestives avec leur noyau (**N**) au pôle basal et leurs grains caractéristiques (**étoiles**) au milieu de la cellule. **L**, lumière.

C : Observation au microscope électronique à transmission (M.E.T.) d'une cellule cryptique (**CC**) entourée de deux cellules vacuolaires (**CV**). La cellule cryptique a sa forme triangulaire caractéristique avec un noyau (**N**) central et un cytoplasme rempli de petites inclusions sphériques (**flèches**) identifiées comme étant des sphérocristaux. Sur cette observation, la lame basale (**flèche courbée**) est bien visible.

D : Détail des sphérocristaux d'une cellule cryptique vu au M.E.T. Les sphérocristaux sont constitués de couches concentriques alternativement denses et claires aux électrons.

E : Détail de deux Sporozoaires vu au M.E.T. Les symbiotes sont contenus dans une vacuole parasitaire (**VP**) dans une cellule vacuolaire (**CV**). Ce type cellulaire est caractérisé par un cytoplasme presque exclusivement rempli de vacuoles qui apparaissent vides au M.E.T. Dans les symbiotes, on voit des sous-structures protégées par une coque constituée de couches concentriques.

F : Détail du stade en « goutte » identifié comme le stade trophozoïte par Gros *et al.* (2009). L'extrémité étroite du symbiote est en contact direct avec le cytoplasme de la cellule vacuolaire. Dans le symbiote, on observe une structure possédant une coque formée par des couches concentriques de matériel dense aux électrons. Cette « sous-structure » rappelle le stade bourgeonnant de la figure E à gauche. Notons la présence d'un stade plus petit caractérisé par de petites inclusions sphériques denses aux électrons entourées d'un halo clair (**flèche**). **VP**, vacuole parasitaire.

G : Autre stade en « goutte » contenu dans sa vacuole parasitaire (**VP**) vu au M.E.T. Cette fois le symbiote n'est pas en contact avec le cytoplasme de la cellule hôte. Dans le symbiote, on observe au moins trois sous-structures (**étoiles**), dont une qui présente de petites inclusions denses aux électrons délimitées par un anneau clair. Cette dernière est similaire au stade que l'on observe parfois libre dans le cytoplasme, comme sur la figure F à gauche ou sur la planche 17, figure F.

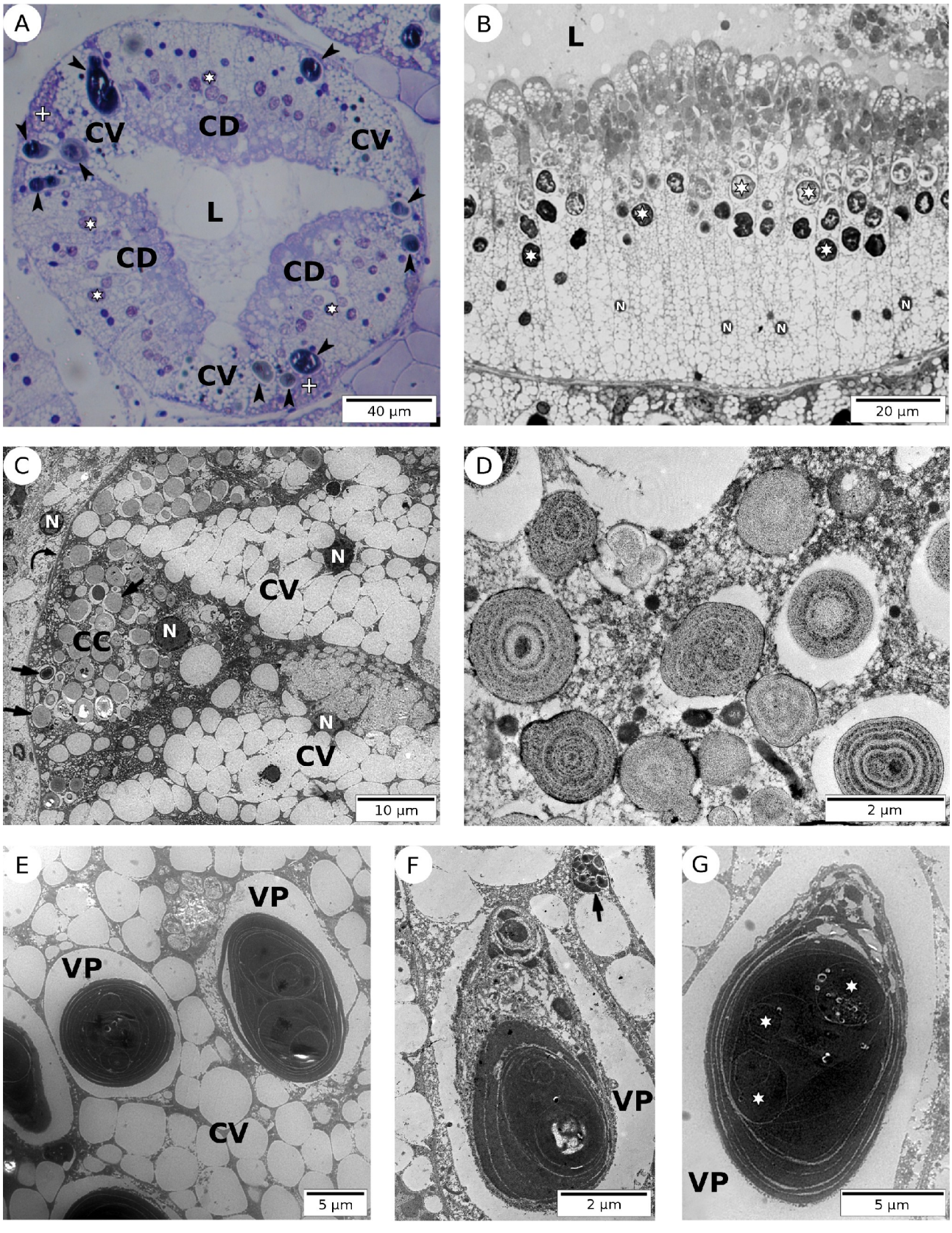

A
CV
CD
CV
L
CD
CD
CV
40 µm
B
L
N
N
N
N
20 µm
C
N
N
CV
CC
N
N
CV
10 µm
D
2 µm
E
VP
VP
CV
5 µm
F
VP
2 µm
G
VP
5 µm

PLANCHE 4

Observation de la glande digestive de *Strombus costatus* et de ses symbiotes

---

A : Coupe semi-fine de la glande digestive de *S. costatus*. Dans le tubule central, deux groupes de cellules digestives (**CD**) se font face et aux extrémités du tubule, un nombre important de symbiotes (**S**) est présent. **CC**, cellule cryptique ; **CV**, cellule vacuolaire.

B : Observation au M.E.T. d'une partie d'un tubule digestif centrée sur un groupe de cellules vacuolaires (**CV**) dont le cytoplasme est presque exclusivement rempli par leurs symbiotes (**S**). Certains symbiotes apparaissent très clairs aux électrons alors que d'autres sont denses aux électrons. **CD**, cellule digestive ; **L**, lumière.

C : Fracture de la glande digestive vue au M.E.B. On distingue l'arrondi d'un tubule digestif avec des symbiotes (**S**) contenus dans les cellules vacuolaires (**CV**).

D : Détail au M.E.T. de quatre stades de développement de symbiotes. Le plus gros est entouré d'une coque épaisse formée de plusieurs couches denses aux électrons (**double flèche**). Dans le stade en bas à droite, on distingue des bourgeonnements internes. Le plus petit stade (**flèche**) n'est pas toujours présent dans les échantillons. Il est caractérisé par la présence de petits granules internes. **CV**, cellule vacuolaire ; **S**, symbiote.

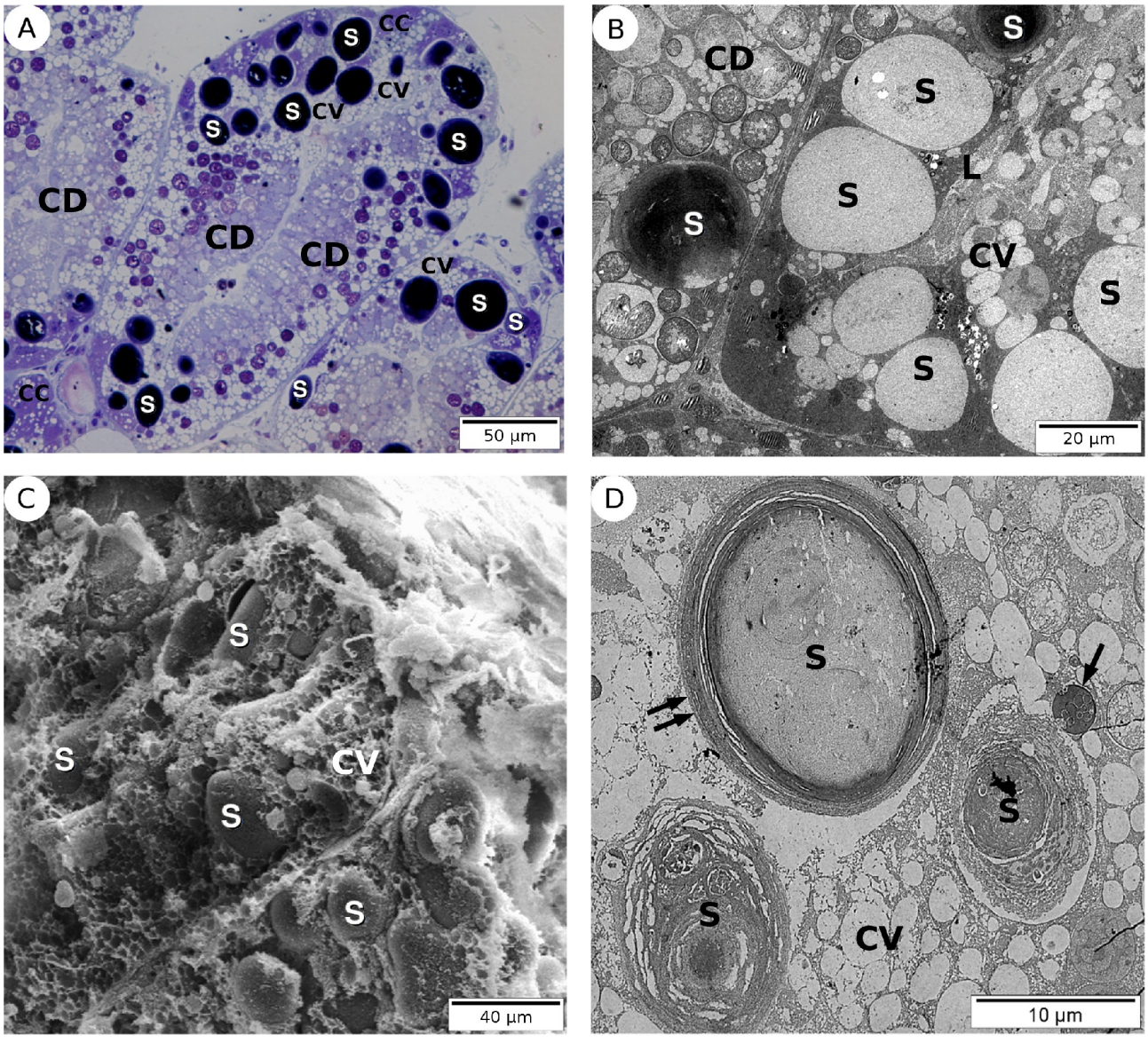

A
CC
S
CV
S
CV
S
S
CD
CD
CD
CV
S
S
CC
S
S
50 µm
B
CD
S
S
L
S
S
CV
S
S
20 µm
C
S
S
CV
S
S
40 µm
D
S
S
S
CV
10 µm

PLANCHE 5

Observation de la glande digestive de *Strombus gallus* et de ses symbiotes

---

A : Coupe semi-fine de la glande digestive de *S. gallus* centrée sur deux tubules digestifs. Celui de droite présente deux groupes de cellules digestives (**CD**) caractérisées par la présence de « grains bleus » (**flèches**). Dans les deux tubules on rencontre un nombre important de symbiotes. Certains sont fortement colorés par le bleu de toluidine (**S**) et d'autres moins (**têtes de flèche**). **CC**, cellule cryptique ; **L**, lumière.

B : Détail au M.E.T. d'un tubule digestif de la glande. La lumière est réduite au minimum et l'on voit des microvillosités (**mv**) qui la bordent. Les limites cellulaires entre cellules cryptiques (**CC**) et cellules vacuolaires (**CV**) ne sont pas clairement visibles mais les deux types cellulaires sont différentiables d'après leur contenu. Les cellules vacuolaires contiennent les symbiotes (**S**) qui sont plus ou moins denses aux électrons et les cellules cryptiques contiennent un grand nombre de petites inclusions sphériques : les sphérocristaux.

C : Fracture de la glande digestive vue au M.E.B. Quatre symbiotes (**S**) à des stades de développement différents sont visibles. Entre les symbiotes, s'intercalent des cellules cryptiques (**CC**) dans lesquelles les sphérocristaux apparaissent sous forme de petites sphères.

D : Détail au M.E.T. de quatre symbiotes (**S**) dans leur cellule vacuolaire (**CV**). Entre les cellules vacuolaires s'intercalent des cellules cryptiques (**CC**) pyramidales dont le cytoplasme est plein de petites inclusions sphériques : les sphérocristaux. **mv**, microvillosités.

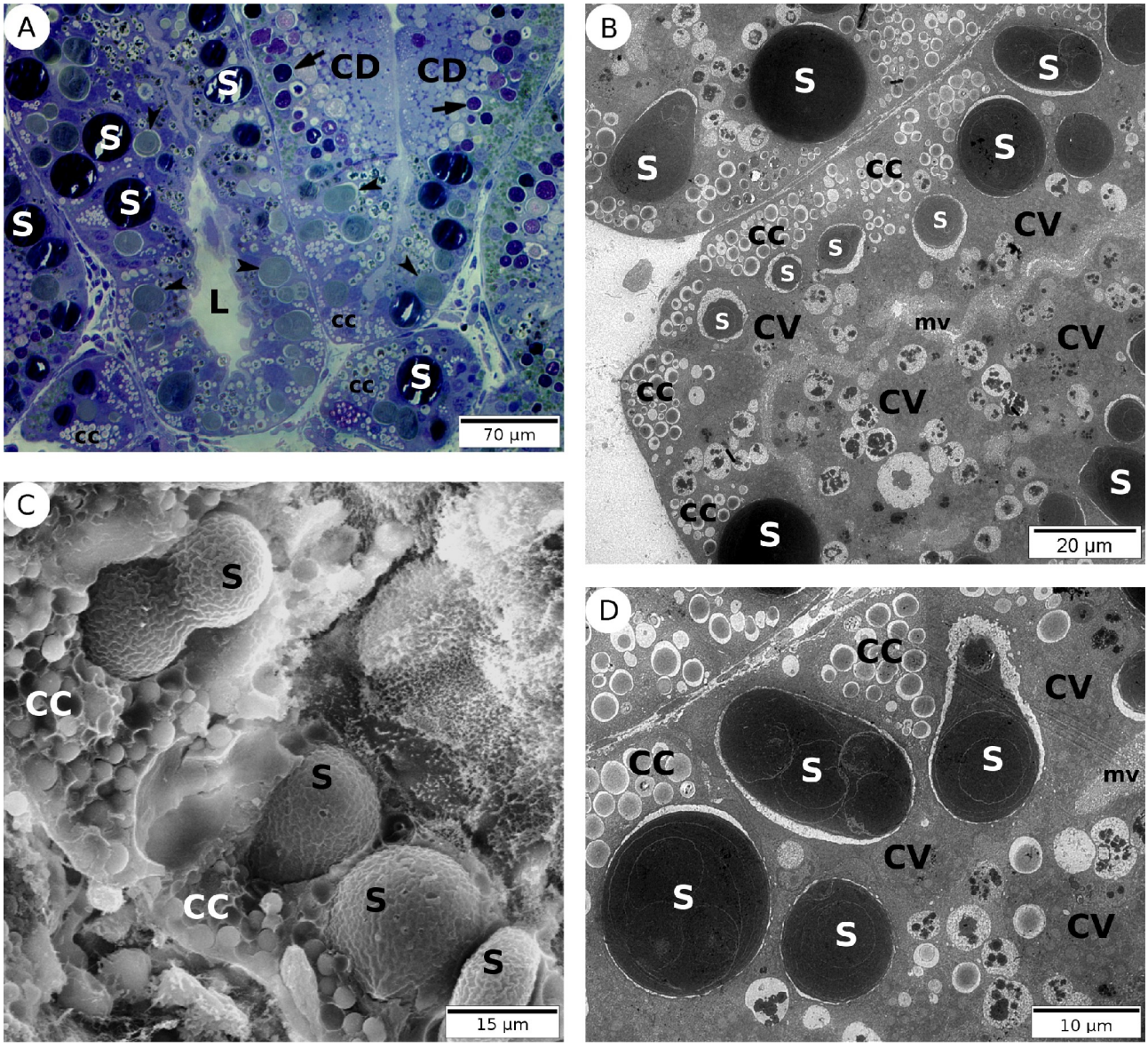

A
CD
CD
S
S
S
S
L
cc
cc
cc
S
70 µm
B
S
S
S
S
cc
CV
cc
s
s
s
s
CV
mv
CV
cc
CV
S
cc
S
20 µm
C
S
cc
S
cc
S
S
15 µm
D
cc
CV
cc
S
S
mv
CV
S
S
CV
10 µm

PLANCHE 6

Observation de la glande digestive de *Strombus pugilis* et de ses symbiotes

---

A : Coupe semi-fine d'un tubule digestif typique entouré de tissu conjonctif (**C**). Deux groupes de cellules digestives (**CD**), avec leurs grains bleus (**étoile**) se font face. Les deux extrémités du tubule sont occupées par les cellules vacuolaires (**CV**) et les cellules cryptiques (**croix**). Aux pôles apicaux de ces cellules on peut voir des microvillosités (**mv**). Dans ce tubule seul un symbiote (**S**) est visible. **L**, lumière.

B : Coupe semi-fine de la glande digestive centrée sur un tubule dont le plan de coupe ne laisse pas apparaître une structure classique comme sur la **figure A**, mais l'on peut y voir plusieurs symbiotes (**S**) à différents stades de développement. **C**, tissu conjonctif ; **CD,** cellule digestive ; **CV**, cellule vacuolaire ; **Croix**, cellule cryptique ; **Étoile**, grain bleu de cellule digestive.

C : Tubule digestif classique vu en microscopie photonique. Trois groupes de cellules digestives (**CD**) sont reconnaissables grâce à leurs grains bleus (**étoiles**) caractéristiques. Des symbiotes (**S**) sont contenus dans leur cellule vacuolaire (**CV**).

D : Détail au M.E.T. de deux symbiotes qui ont la particularité de contenir de petites inclusions sphériques (**flèches**). Les symbiotes sont dans des cellules vacuolaires (**CV**). Des sphérocristaux (**croix**) caractéristiques des cellules cryptiques ont été détruits par le passage du couteau en diamant lors de la coupe.

E : Fracture de la glande digestive observée au M.E.B. sur laquelle on devine la limite d'un tubule digestif (**flèches**). Un unique symbiote (**S**) est partiellement visible dans sa cellule vacuolaire (**CV**). **L**, lumière.

F : Détail de l'extrémité d'un tubule digestif en coupe semi-fine. Un symbiote (**S**) en forme de bouteille est contenu dans une cellule vacuolaire (**CV**). Sur cet échantillon post-fixé à l'osmium, les vacuoles des cellules vacuolaires apparaissent sous forme de grains verts. Des cellules cryptiques (**CC**) intercalées entre les cellules vacuolaires sont reconnaissables par la présence de sphérocristaux au pôle apical et d'un gros noyau (**N**) au pôle basal. Au pôle apical de ces cellules, des microvillosités (**mv**) sont visibles. Quelques cellules digestives (**CD**) caractérisées par la présence de grains bleus (**étoiles**) sont également visibles.

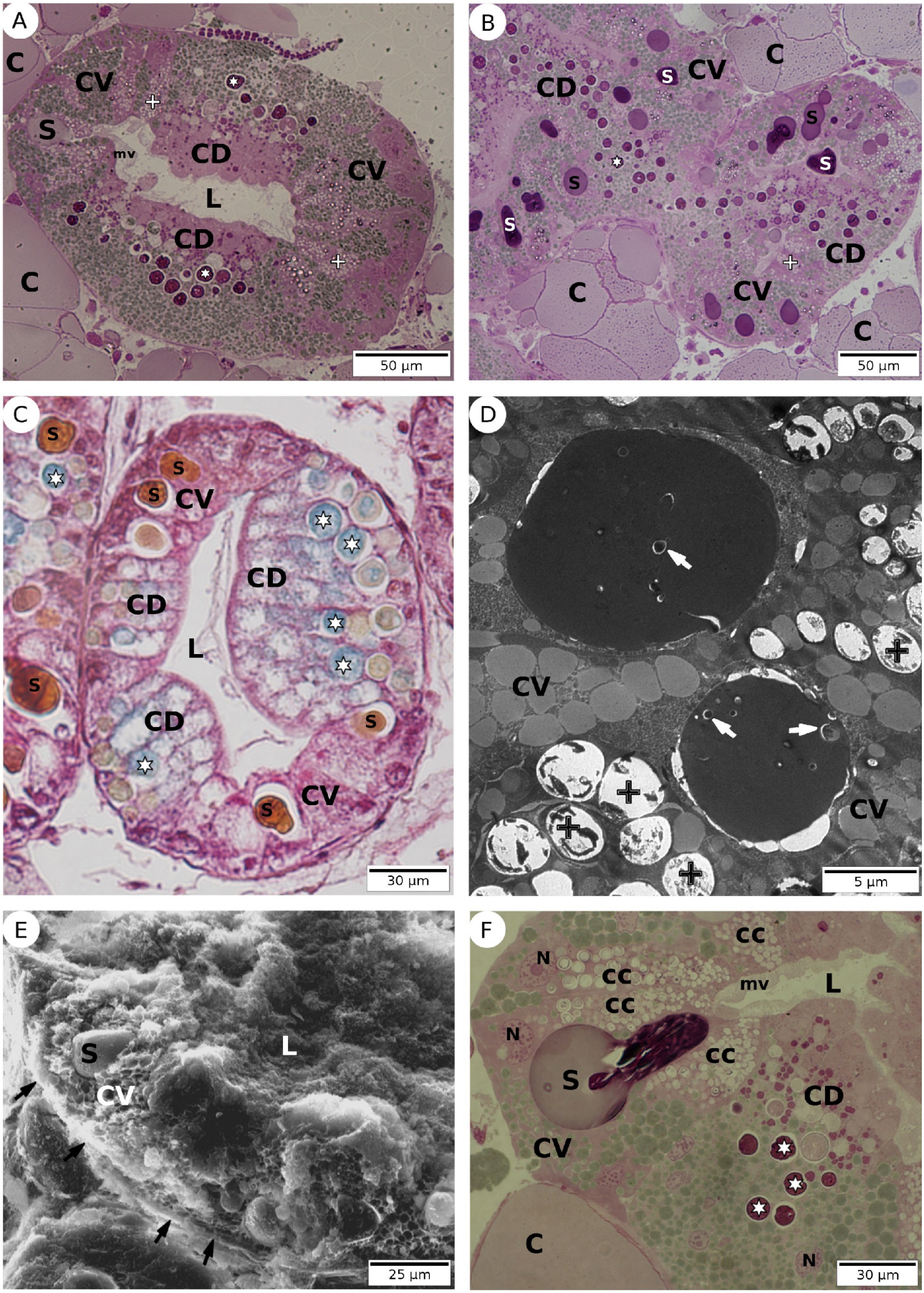

A
C
CV
S
mv
CD
CV
L
CD
C
50 µm
B
CD
S
CV
C
S
S
S
S
CD
C
CV
C
50 µm
C
S
S
S
CV
CD
CD
L
S
CD
S
CV
S
30 µm
D
CV
CV
5 µm
E
S
L
CV
25 µm
F
CC
N
CC
CC
mv
L
N
CC
S
CD
CV
C
N
30 µm

PLANCHE 7

Observation de la glande digestive de *Strombus raninus* et de ses symbiotes

---

A : Observation histologique des tubules digestifs. Trois tubules sont visibles. Ils sont composés de trois à cinq blocs de cellules digestives (**CD**). À l'échelle de l'histologie, on ne distingue pas les cellules vacuolaires des cellules cryptiques. En revanche, les symbiotes (**têtes de flèche**) sont visibles. Notons également le tissu conjonctif qui comble l'espace entre les tubules. **C**, tissu conjonctif ; **L**, lumière.

B : Coupe semi-fine d'un tubule digestif. Ici, quatre blocs de cellules digestives **(CD**) sont visibles. Au tiers basal de celles-ci, des grains métachromatiques sont présents. La lumière est réduite à un espace fin entre les blocs de cellules digestives. Les symbiotes (**têtes de flèche**) présents entre les blocs de cellules digestives sont fortement colorés par le bleu de toluidine. Ils sont souvent abîmés par le couteau lors de la coupe. **C**, tissu conjonctif.

C : Fracture de l'extrémité d'un tubule digestif observée au M.E.B. Le tubule est fracturé dans la longueur. Dans la lumière (**L**), on voit le pôle apical des cellules épithéliales du tubule qui forment un damier. Les **flèches** montrent la limite du tubule fracturé. Dans la partie terminale du tubule, des symbiotes (**S**) sont visibles, encore à moitié inclus dans leur cellule hôte : des cellules vacuolaires (**CV**). Deux blocs de cellules digestives **(CD)** sont également visibles.

D : Détail de l'extrémité d'un tubule digestif vu au M.E.T. Les **flèches** marquent les limites du tubule. On observe ici les trois types cellulaires : les cellules digestives (**CD**) sont reconnaissables grâce à la présence de leurs grains caractéristiques (**étoiles**) ; les cellules vacuolaires (**CV**) contiennent les symbiotes (**S**) et les cellules cryptiques (**CC**), reconnaissables par la présence de nombreuses petites inclusions sphériques : les sphérocristaux. Les noyaux (**N**) des cellules cryptiques sont reconnaissables par la présence d'un gros nucléole. **C,** tissu conjonctif ; **mv**, microvillosités.

E, F : Détails au M.E.T. de deux symbiotes à des stades de développement différents. Ils sont contenus dans une vacuole parasitaire (**VP**) et présentent tous deux des bourgeonnements internes. **N**, noyau.

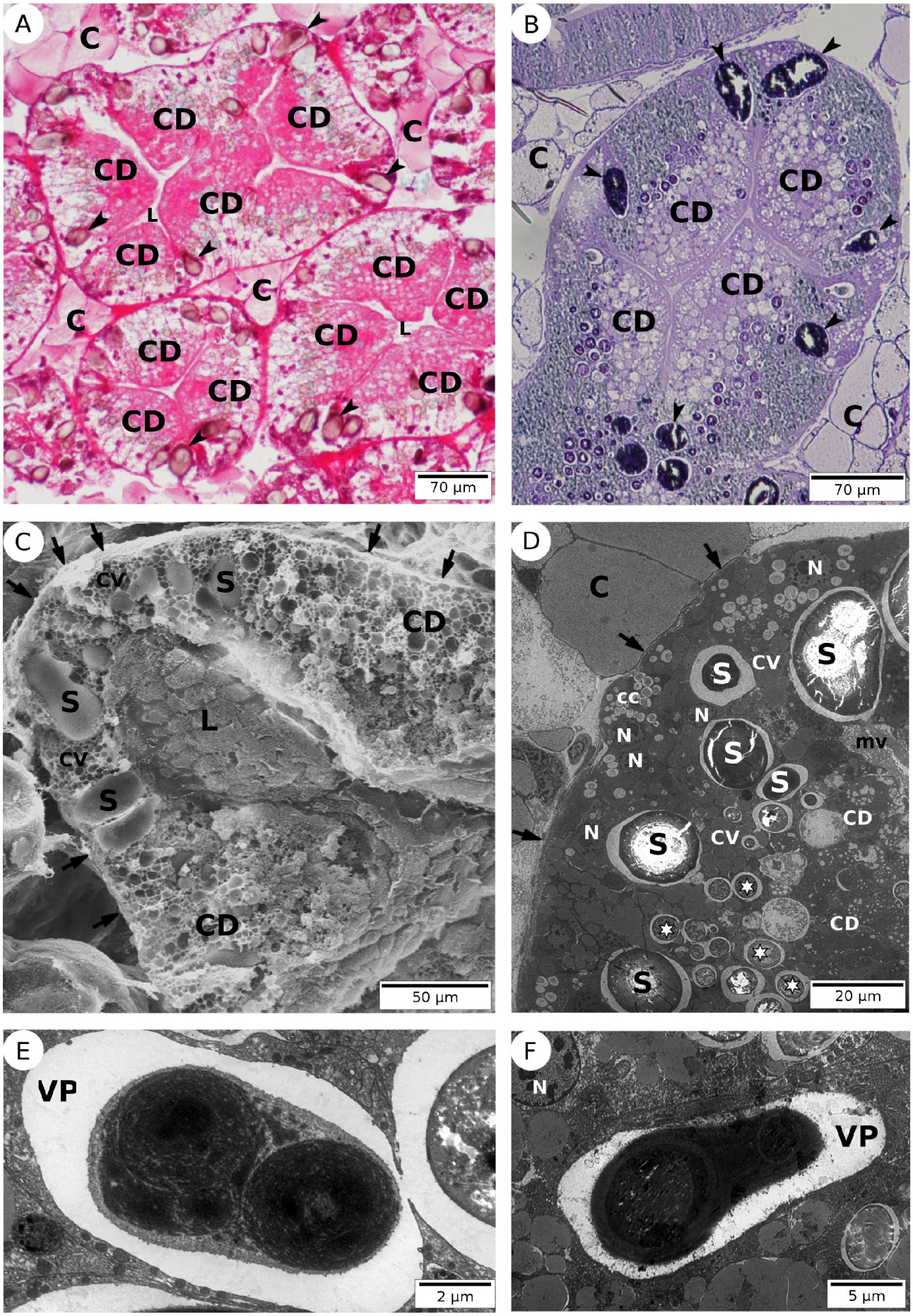

A
C
CD
L
70 µm
B
C
CD
70 µm
C
CV
S
CD
L
50 µm
D
C
N
S
CV
cc
mv
CD
20 µm
E
VP
2 µm
F
N
VP
5 µm

PLANCHE 8

Observation de la glande digestive des Strombidae du Pacifique et de leurs symbiotes

---

A : Observation histologique d'un tubule digestif de *S. galeatus* vu au microscope photonique. Quatre blocs de cellules digestives (**CD**) sont visibles et caractérisés par la présence de grains colorés par le bleu alcian. Entre ces blocs, des cellules vacuolaires (**CV**), au cytoplasme plus clair, contiennent des symbiotes (**têtes de flèche**) de stades variés. Notons la présence de trois symbiotes dans la lumière du tubule.

B, C : Détails au M.E.T. **(Figure B)** et au microscope photonique (**Figure C**) de quelques symbiotes (**S**) à des stades de développement différents. La qualité de la fixation n'est pas optimale, mais on reconnaît les cellules vacuolaires (**CV**) et les cellules cryptiques (**CC**) sur la coupe semi-fine. **N**, noyau ; **L**, lumière.

D-F : Observations de la glande digestive de *L. lambis* au M.E.T. (**Figure D**), au microscope photonique sur coupe semi-fine (**Figure E**) et au M.E.B. (**Figure F**). Là encore, la qualité de la fixation ne permet pas de réaliser des observations ultrastructurales poussées, mais elle est suffisante pour constater la présence de symbiotes (**S** et **têtes de flèche**) dans les cellules vacuolaires (**CV**). En coupe semi-fine, de nombreux stades de développement différents sont visibles. Ils n'ont pas tous la même affinité pour le colorant. Sur cette même micrographie, on observe les grains bleus (**étoiles**) caractéristiques des cellules digestives. Enfin, au M.E.B., un tubule fracturé dans sa longueur laisse apparaître quelques symbiotes encore à moitié maintenus dans leur vacuole parasitaire ainsi que la lumière (**L**) du tubule. **Flèches**, limite du tubule.

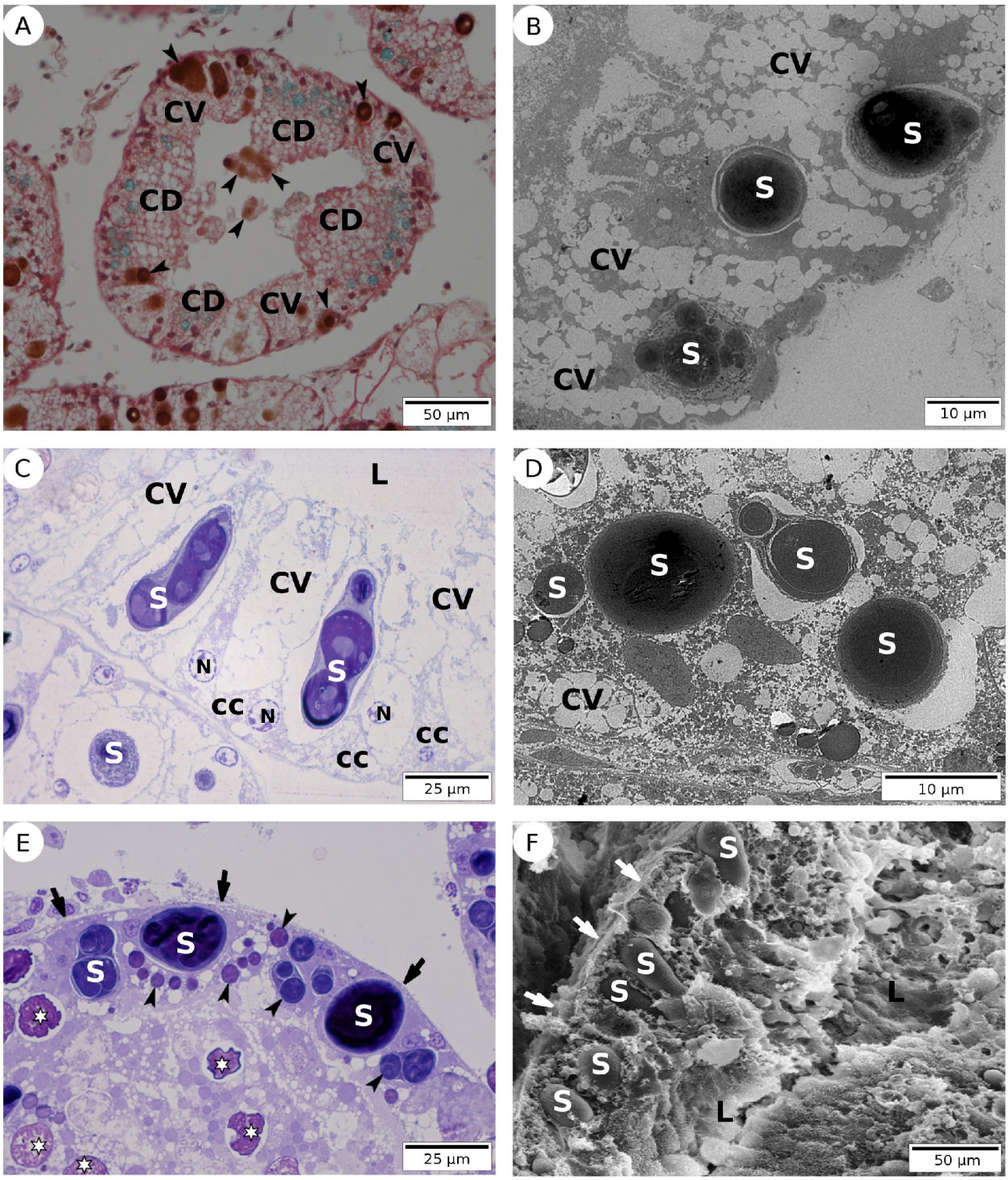

A
CV
CD
CV
CD
CD
CD
CV
50 µm
B
CV
S
S
CV
S
CV
10 µm
C
CV
L
S
CV
CV
N
S
CC
N
N
CC
S
CC
25 µm
D
S
S
S
S
CV
10 µm
E
S
S
S
25 µm
F
S
S
S
L
S
S
L
50 µm

PLANCHE 9

Différents stades de développement des symbiotes des Strombidae

---

A-D : Observations au microscope photonique de symbiotes de *S. gigas* sans coloration à partir de la « fraction symbiote » issue du broyat de la glande. **Figure A**, notons la présence d'un complexe apical (**flèche**) moins dense à la lumière. Ce stade présente la forme caractéristique en goutte. Sur les autres clichés (**Figures B-D**), des bourgeonnements internes son visibles par transparence.

E-H : Observations au M.E.B. de différents stades de développement des symbiotes de *S. costatus* à partir de la « fraction symbiote » issue du broyat de la glande. **Flèche**, complexe apical.

I-L : Observations des différents stades de développement des symbiotes en coupe. **Figure I**, stade en forme de goutte observé chez *L. lambis* au M.E.T. **Figure J**, stade sporulant observé au M.E.T. dans les cellules digestives de *S. gigas*. **Figure K**, autre stade sporulant, plus allongé, observé sur une coupe semi-fine de la glande digestive de *S. galeatus*. **Figure L**, stade sporulant d'un symbiote de *L. lambis* observé au M.E.T. **Flèche**, complexe apical.

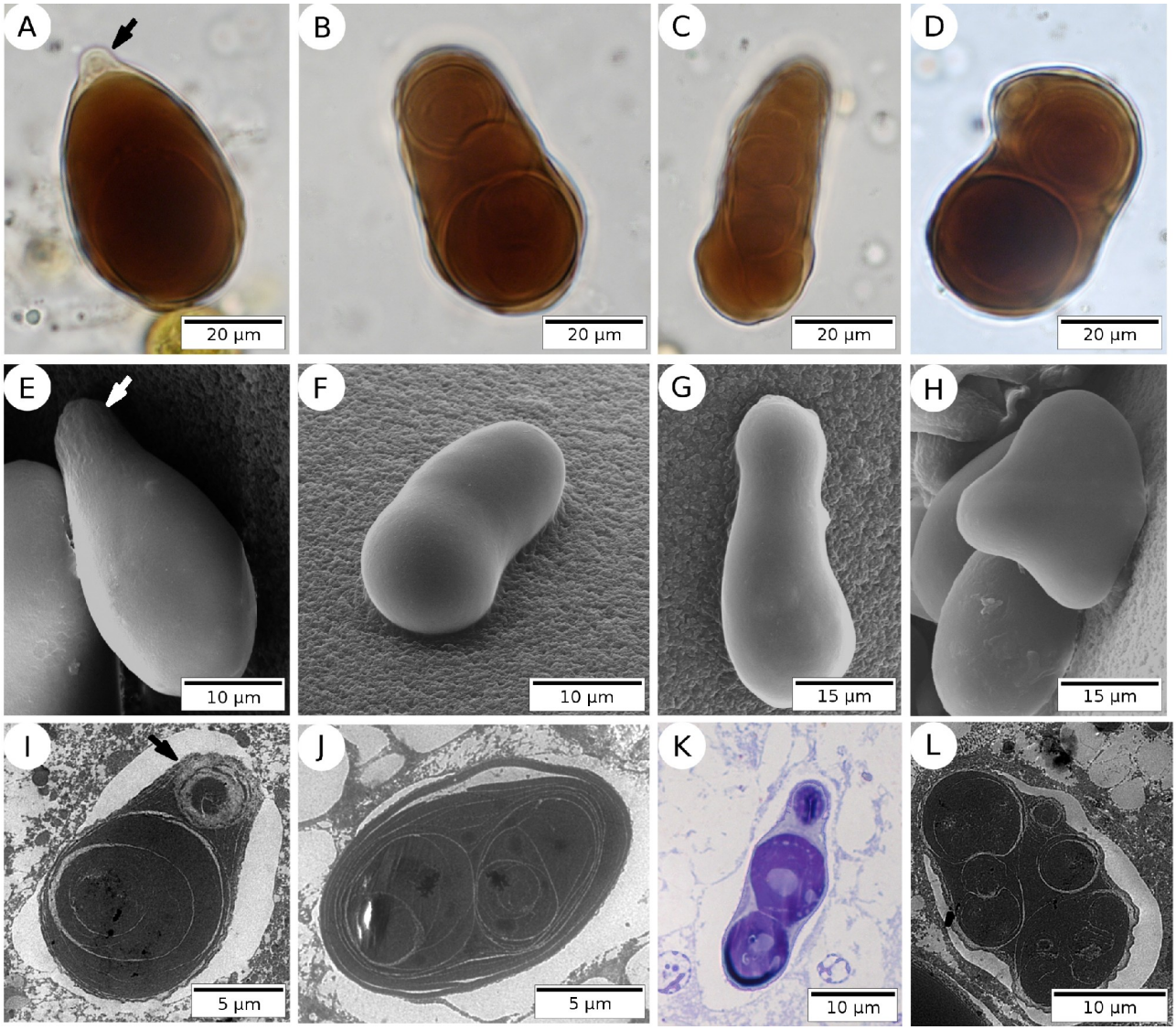

A
20 µm
B
20 µm
C
20 µm
D
20 µm
E
10 µm
F
10 µm
G
15 µm
H
15 µm
I
5 µm
J
5 µm
K
10 µm
L
10 µm

PLANCHE 10

Observation de la glande digestive de *Marisa cornuarietis* et de ses symbiotes

---

A : Observation histologique de la glande digestive montrant de nombreux tubules en coupes transversales. La lumière (**L**) est large et remplie d'un contenu homogène de fines particules qui se colorent à la fuschine acide. Entre les tubules digestifs, le tissu conjonctif (**C)** est mal conservé lors de la préparation de l'échantillon. L'aspect granuleux de l'épithélium des tubules est dû à la présence des symbiotes (**têtes de flèche**).

B : Détail d'un tubule digestif en coupe semi-fine. Sur ce tubule, de forme allongée, on ne distingue qu'un seul type cellulaire : les cellules digestives (**CD)** caractérisées par leur granule (**flèches**) au pôle basal. Une grande quantité de symbiotes **(têtes de flèche)** est présente dans le deuxième type cellulaire du tubule. **L**, lumière.

C : Détail au M.E.T. de deux symbiotes (**S1** et **S2**) de *M. cornuarietis*. Sur celui de droite, on peut voir la vacuole parasitaire (**VP**). La fixation des symbiotes est mauvaise et les structures internes sont mal conservées. On note tout de même qu'ils sont formés par des couches successives. Aux pôles apicaux, de petites inclusions sont visibles (**flèches**). **CD**, cellule digestive.

D : Agrandissement du pôle apical du Sporozoaire **S1** de la figure C. On voit en détail, les petites inclusions (**flèches**) du pôle apical qui semblent s'intégrer à la structure du symbiote. Elles sont également présentes dans l'espace de la vacuole parasitaire (**VP**) et dans le cytoplasme de la cellule (**Cy**).

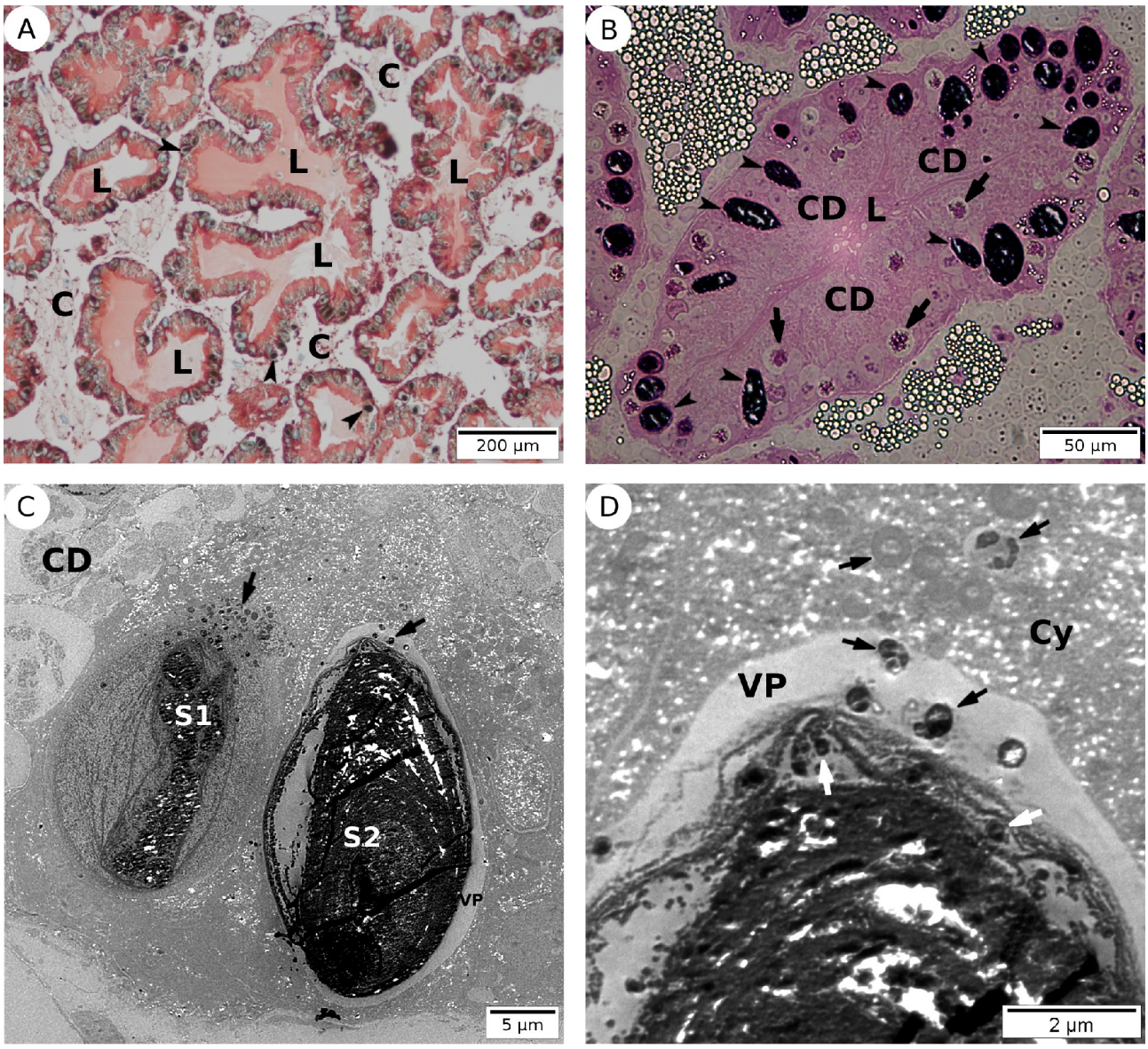

A
C
L
L
L
L
C
L
C
200 µm
B
CD
CD
L
CD
50 µm
C
CD
S1
S2
VP
5 µm
D
Cy
VP
2 µm

PLANCHE 11

Observation de la glande digestive de *Pomacea glauca* et de ses symbiotes

---

A : Observation histologique de la glande digestive montrant de nombreux tubules en coupe transversale et un canal collecteur (**CC**). Comme chez *Marisa cornuarietis*, les lumières (**L**) des tubules sont pleines d'un contenu homogène fin. Dans les tubules digestifs, de nombreux symbiotes sont colorés par le bleu alcian (**têtes de flèche**).

B : Détail d'un tubule digestif observé au microscope photonique où l'on peut voir les cellules digestives (**CD**) caractérisées par la présence de grains colorés par le bleu alcian (**étoiles**) comme pour les Strombidae. Le cytoplasme des cellules digestives est d'aspect granuleux. Dans les zones anguleuses du tubule un autre type cellulaire est visible. Il est plus foncé que les cellules digestives et contient les symbiotes (**têtes de flèche**). **C**, tissu conjonctif ; **L**, lumière.

C : Observation d'un tubule digestif en coupe semi-fine. Les cellules digestives (**CD**) présente un cytoplasme vacuolaire. Plusieurs symbiotes (**têtes de flèche**) de tailles différentes sont visibles. **C,** tissu conjonctif ; **L,** lumière.

D : Détail d'une zone anguleuse d'un tubule digestif en coupe semi-fine. La coupe a volontairement été insuffisamment colorée afin de révéler la structure des symbiotes. On peut voir les couches concentriques qui forment les symbiotes et chez certains, deux sous-structures (**têtes de flèche**) sont visibles. De petites inclusions (**flèches**) sont visibles aux pôles apicaux de certains symbiotes. **CD**, cellule digestive.

E : Observation au M.E.T. d'une cellule pyramidale entre deux cellules digestives (**CD**) qui présentent des grains caractéristiques (**étoiles**). Dans la cellule pyramidale, quatre symbiotes sont visibles. Sur trois d'entre eux, de petites inclusions apicales (**flèches**) semblables à celles de *M. cornuarietis* (Pl. 10C, D) sont visibles. **C**, tissu conjonctif.

F : Agrandissement au M.E.T. du pôle apical d'un Sporozoaire (**S**). Les inclusions du pôle apical (**flèches**) sont visibles dans la structure du symbiote, dans l'espace de la vacuole parasitaire (**VP**) et dans le cytoplasme (**Cy**) de la cellule hôte. Une interruption de la membrane délimitant la vacuole parasitaire (**double flèche**) traduit la fusion d'une petite vésicule avec celle-ci. Sur ces observations on ne peut savoir si les inclusions vont du symbiote vers le cytoplasme ou l'inverse, mais il est clair qu'il s'agit d'un processus d'échange.

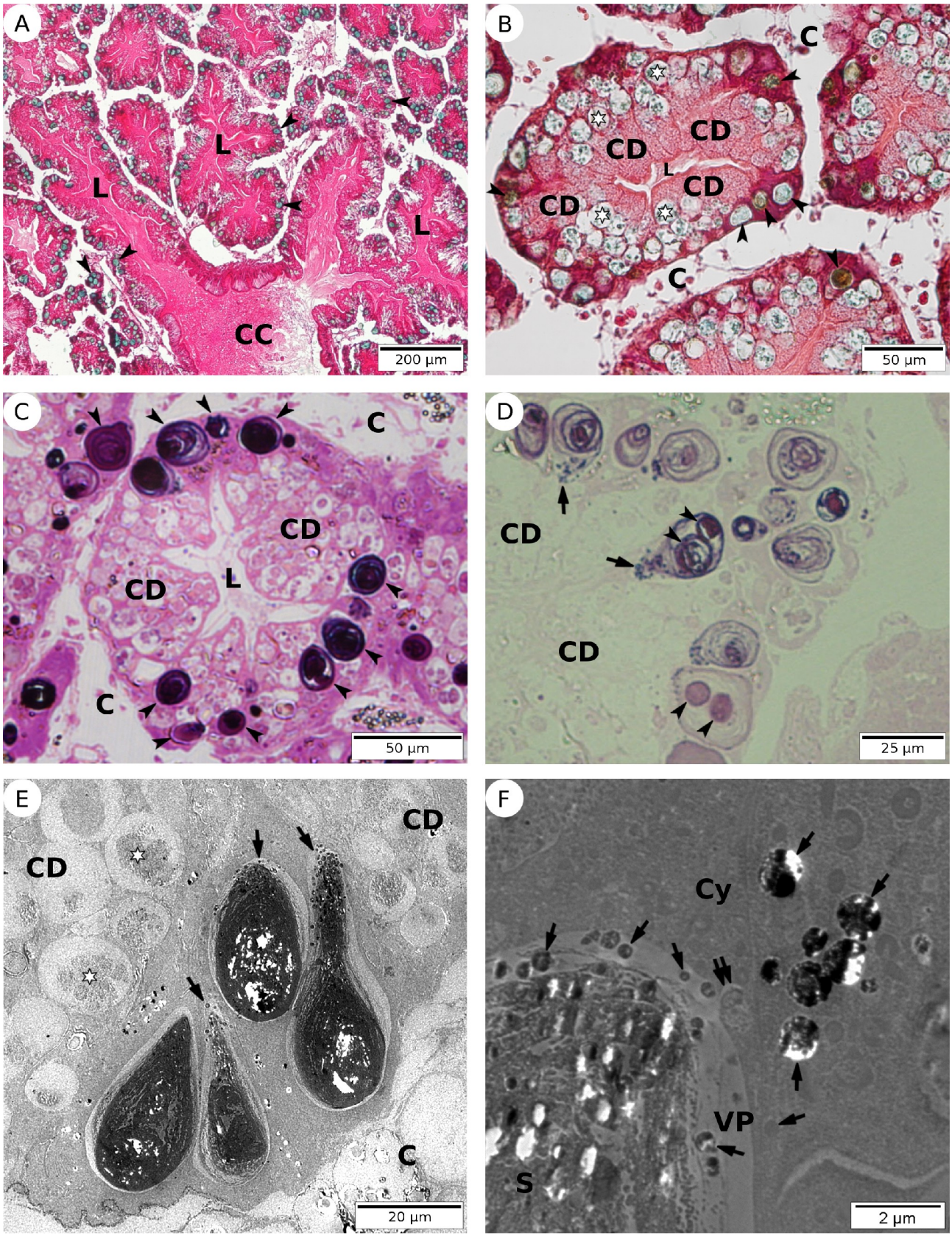

A
L
L
L
CC
200 µm
B
C
CD
CD
L
CD
CD
C
50 µm
C
C
CD
CD
L
C
50 µm
D
CD
CD
25 µm
E
CD
CD
C
20 µm
F
Cy
VP
S
2 µm

PLANCHE 12

Mise en évidence de l'A.D.N. sur coupes semi-fines de la glande digestive de *Strombus gigas*

A, B : Observations au microscope à épifluorescence de coupes semi-fines sériées d'un tubule digestif réalisées à partir d'une inclusion en résine LR-White. **Figure A**, mise en évidence de l'A.D.N. en utilisant le DAPI comme intercalant nucléotidique fluorescent. Les noyaux des cellules épithéliales du tubule fluorescent en bleu (**flèches**). **Figure B**, la coupe est colorée au bleu de toluidine et on peut y voir clairement les symbiotes (**S**) et les grains bleus des cellules digestives (**CD**). En comparant les photos **A** et **B**, on voit clairement que les symbiotes (**cercles**) et les grains bleus (**doubles cercles**) ne sont pas marqués au DAPI.

C : Coupe semi-fine d'un tubule digestif à partir d'une inclusion en résine LR-White colorée au SybR green. Le SybR green offre de meilleurs résultats que le DAPI. Les noyaux (**flèches**) apparaissent plus contrastés que sur la micrographie **A**. Les symbiotes (**S**), en revanche, ne sont pas plus marqués qu'avec le DAPI. Dans les cellules digestives (**CD**), les noyaux, aux pôles basaux, sont fluorescents et les grains bleus au centre de la cellule ne le sont pas. **L**, lumière.

D : Détail de quelques symbiotes à plus fort grossissement. Chez certains stades, on peut voir de petits points verts (**flèches**) qui pourraient correspondre à un faible marquage nucléaire.

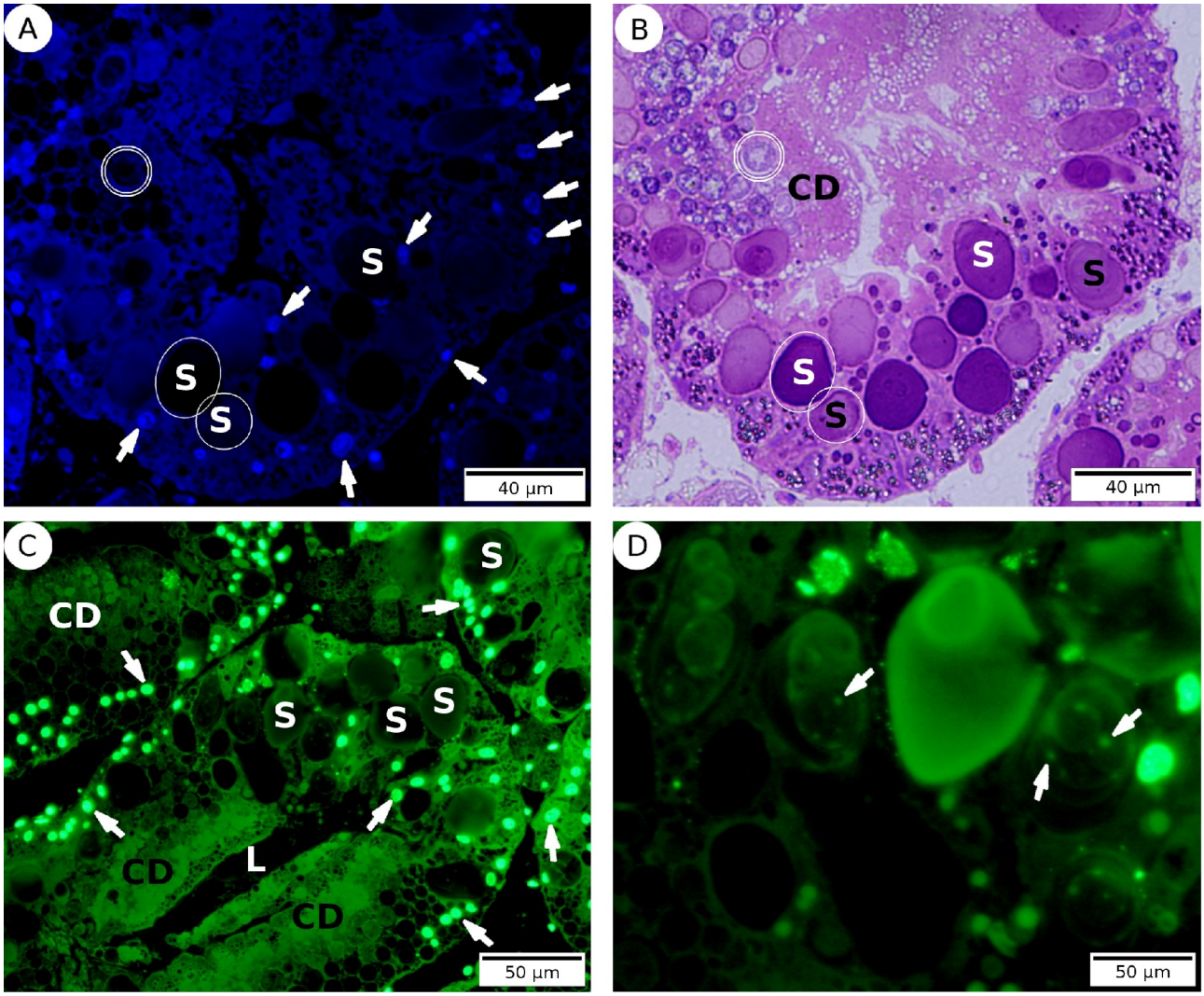

A
S
S
S
40 µm
B
CD
S
S
S
S
40 µm
C
S
CD
S
S
S
CD
L
CD
50 µm
D
50 µm

PLANCHE 13

Mise en évidence de l'A.D.N. sur coupes semi-fines de la glande digestive de *Pomacea glauca*

A, B : Observations au microscope à épifluorescence de coupes semi-fines sériées d'un tubule digestif réalisées à partir d'une inclusion en résine LR-White. **Figure A**, mise en évidence de l'A.D.N. en utilisant le SybR green comme intercalant nucléotidique fluorescent. Les noyaux (**flèches**) des cellules épithéliales sont clairement marqués par le SybR green. **Figure B**, la même zone que la micrographie **A** est maintenant colorée au bleu de toluidine. On y voit les nombreux symbiotes fortement colorés dans les cellules pyramidales (**CP**). On différencie également les cellules digestives (**CD**). En comparant les deux micrographies, on voit que les symbiotes (**cercles**) ne sont pas marqués.

C : Détail des cellules digestives de la glande vues au microscope à épifluorescence après marquage au SybR green. Les cellules digestives sont reconnaissables de part leur forme cylindrique caractéristique et leur cytoplasme vacuolaire. Les noyaux (**flèches**) des cellules digestives, proches du pôle basal, sont fluorescents. En revanche, les grains (**têtes de flèche**) des cellules digestives ne sont pas marqués. **L**, lumière.

D : Détail des cellules pyramidales (**CP**) vues au microscope à épifluorescence après marquage au SybR green. Les noyaux (**flèches**) des cellules pyramidales sont bien marqués, certains noyaux sont également visibles hors du tubule, dans le tissu conjonctif (**C**). Les symbiotes **(têtes de flèche),** quant à eux, ne présentent aucun marquage. **L**, lumière.

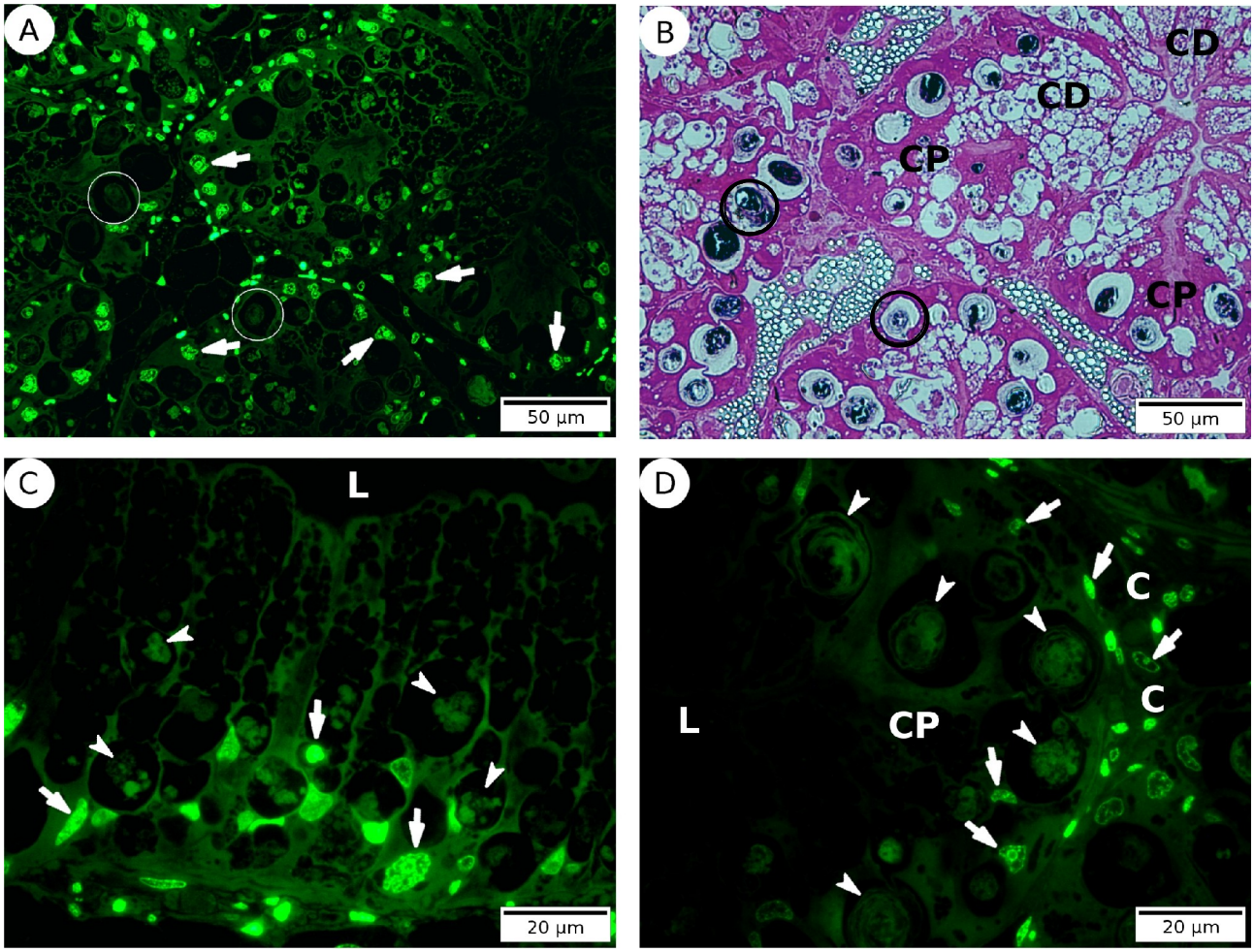

A
50 µm
B
CD
CD
CP
CP
50 µm
C
L
20 µm
D
C
C
L
CP
20 µm

PLANCHE 14

Analyse élémentaire par dispersion des rayons X de la coque des symbiotes des différents Strombidae

---

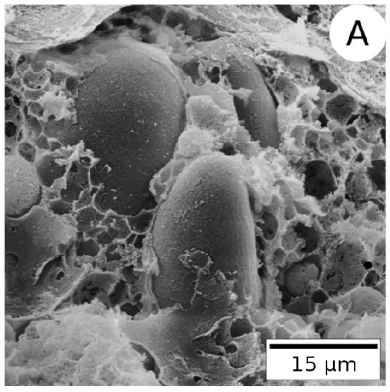
En face de chaque cliché réalisé au M.E.B. est présenté le spectre de l'analyse E.D.X. réalisé sur la coque d'un des symbiotes du champ d'observation. L'analyse est réalisée avec une inclinaison de l'échantillon de 30° et le temps d'acquisition est de 100 secondes. Un seul spectre est représenté ici, mais plusieurs analyses ont été réalisées sur différents symbiotes. Les éléments Al, Ca, Fe et S ont été détectés chez les quatre espèces analysées mais ces éléments n'étaient pas présents dans tous les symbiotes analysés. Les éléments Mg, P et Zn ont parfois été détectés dans la coque des symbiotes de certains Strombidae.

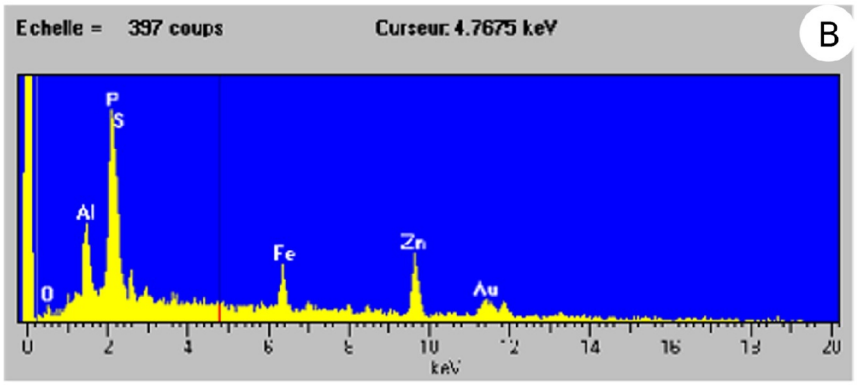
A, B : *Strombus costatus*

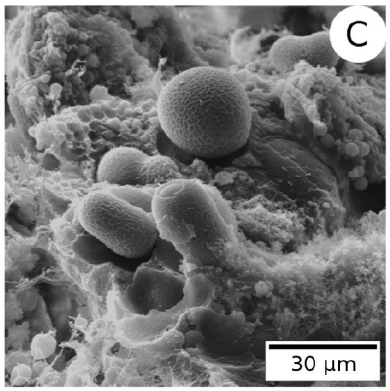
C, D : *Strombus gallus*

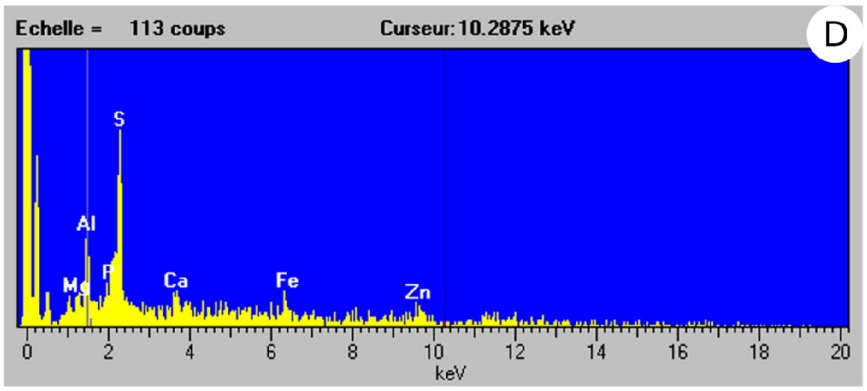
E, F : *Strombus gigas*

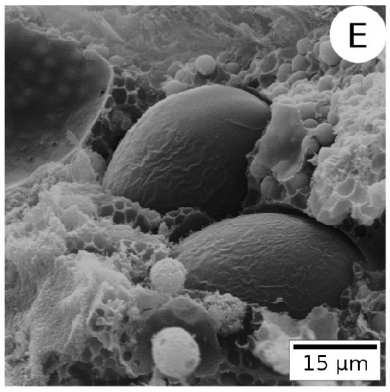
G, H : *Strombus raninus*

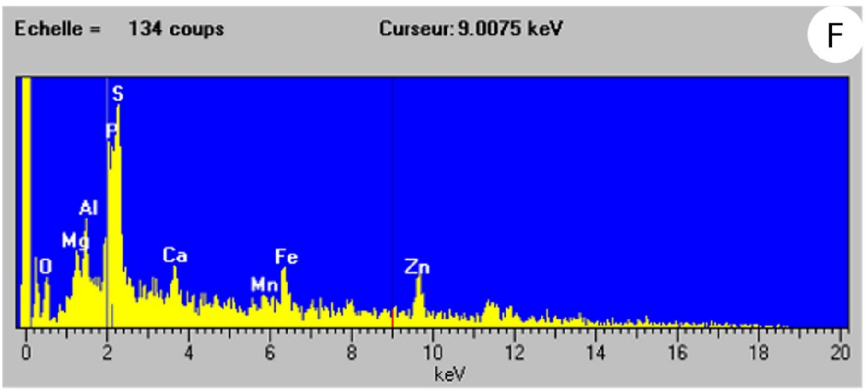

A
15 µm

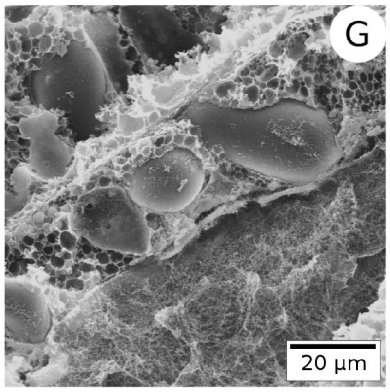

Echelle = 397 coups
Curseur: 4.7675 keV
B
P
S
Al
O
Fe
Zn
Au
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
keV


C
30 µm


Echelle = 113 coups
Curseur: 10.2875 keV
D
S
Al
Mg
P
Ca
Fe
Zn
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
keV


E
15 µm


Echelle = 134 coups
Curseur: 9.0075 keV
F
S
P
Al
Mg
O
Ca
Fe
Mn
Zn
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
keV


G
20 µm

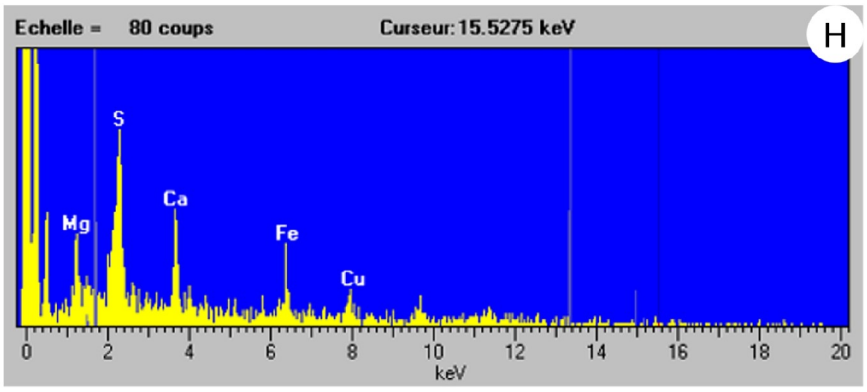

Echelle = 80 coups
Curseur: 15.5275 keV
H
S
Ca
Mg
Fe
Cu
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
keV

PLANCHE 15

Observation microscopique des fèces de *Strombus gigas*

A : Observation au microscope photonique d'une préparation de fèces. On y voit un symbiote (**flèche**), des structures sphériques de quelques micromètres (**têtes de flèche**) et des débris divers. Un fragment de tissu végétal **(double flèche**) est également visible.

B : Détail des structures sphériques (**têtes de flèche**) observées sur la **figure A**, qui composent en grande partie les fèces des Strombidae. Il s'agit de grains parfaitement sphériques, de 5 à 10 µm de couleur jaune-verdâtre qui correspondent aux grains bleus des cellules digestives.

C-E : Détails de trois symbiotes retrouvés dans les fèces de *S. gigas*. Notons qu'il sont présents dans les fèces sous différentes formes qui correspondent sans doute à différents stades de développement. Sur la **figure C** et la **figure E**, on voit nettement des bourgeonnements internes.

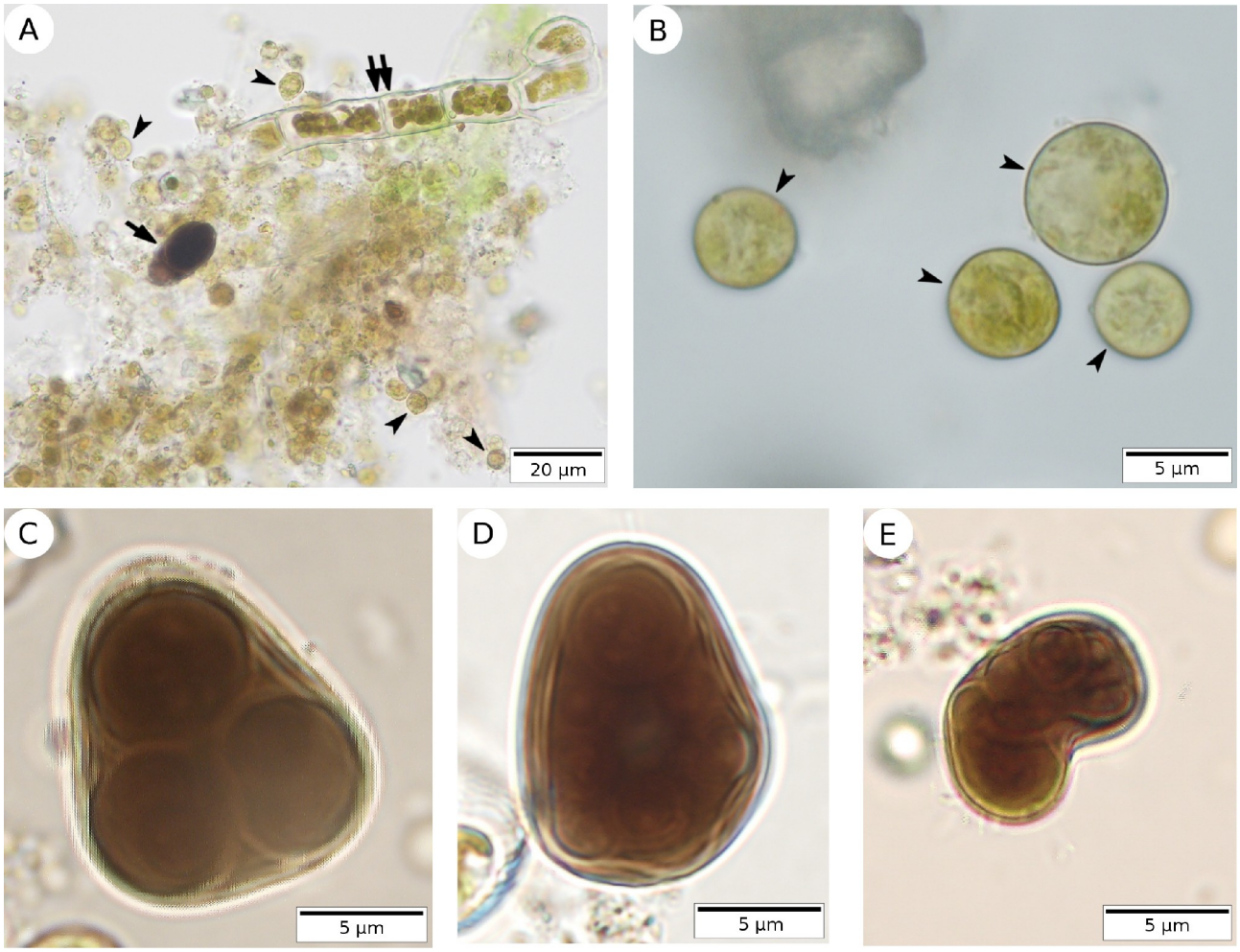

A
20 µm
B
5 µm
C
5 µm
D
5 µm
E
5 µm

PLANCHE 16

Observation d'une ponte de *Strombus pugilis* et du développement embryonnaire et larvaire de *Strombus costatus* et de *Strombus gigas*

A : Observation macroscopique d'un cordon de ponte de *S. pugilis* issu du milieu naturel. Un long cordon s'enroule pour former une pelote de quelques centimètres de long. Le cordon est recouvert d'une fine couche de sable (**encart**) ce qui le rend mimétique du fond sableux.

B : Observation à la loupe binoculaire d'un fragment de cordon de ponte de *S. costatus* obtenu au laboratoire dans un bac d'élevage. Les cordons obtenus au laboratoire ne sont pas recouverts de sable et les très nombreux embryons sont visibles par transparence. Lorsqu'on ouvre le cordon, on trouve un cordon plus fin dans lequel les embryons sont maintenus. Celui-ci s'enroule en solénoïde dans le plus gros cordon.

C : Observation au microscope photonique d'un fragment de cordon de ponte de *S. costatus*. On y voit des ovocytes non fécondés **(étoiles)** et des embryons en cours de développement aux stades deux et quatre cellules. Les limites de la gangue secondaire **(têtes de flèche)** qui s'enroule en solénoïde dans le cordon de ponte sont également visibles. À l'intérieur de cette gangue secondaire se trouvent les embryons qui sont protégés par une troisième gangue (**double tête de flèche**) sphérique qui entoure chaque embryon.

D-I : Observations microscopiques du développement embryonnaire de *S. costatus*. **Figure D**, stade 1 cellule qui correspond à l'ovule fécondé (T_{0h}) sur lequel on observe les gangues secondaires (**tête de flèche**) et tertiaires (**doubles têtes de flèche**). **Figure E**, Stade 2 cellules observé à T_{4h30}. **Figure F**, à T_{6h30}, la plupart des embryons sont passés au stade 4 cellules. **Figure G**, Stade 8 cellules observé à T_{10h}. **Figure H**, Embryon au stade morula. Après trois jours de développement, on commence à voir apparaître un mouvement chez certains embryons (**Figure I**) et après le quatrième jour, les premières éclosions apparaissent.

J, K : Larve véligère de *S. costatus* observée à T_{6jours}. Le vélum cilié de la larve possède déjà quatre lobes (**têtes de flèche**). La glande digestive est déjà formée et est reconnaissable à sa couleur verte en position terminale de la masse viscérale (**K**).

L : Coupe semi-fine d'un embryon de *S. gigas* fixé à T_{24h}. On n'y observe pas encore de tissus organisés et d'importantes réserves vitellines **(Vi)** sont visibles. L'échantillon a été coupé sur tout son volume avec un pas de 1,5 µm. Toutes les coupes ont été observées et aucune structure semblable aux symbiotes détectés chez les adultes n'a pu être observée.

M : Coupe semi-fine d'une larve véligère de *S. gigas* fixée un jour après l'éclosion. Nous n'avons pas été en mesure de détecter des symbiotes dans la glande digestive (**GD**) qui commence seulement à se mettre en place. Des réserves vitellines **(Vi)** sont présentes dans la masse viscérale. **Ve**, vélum.

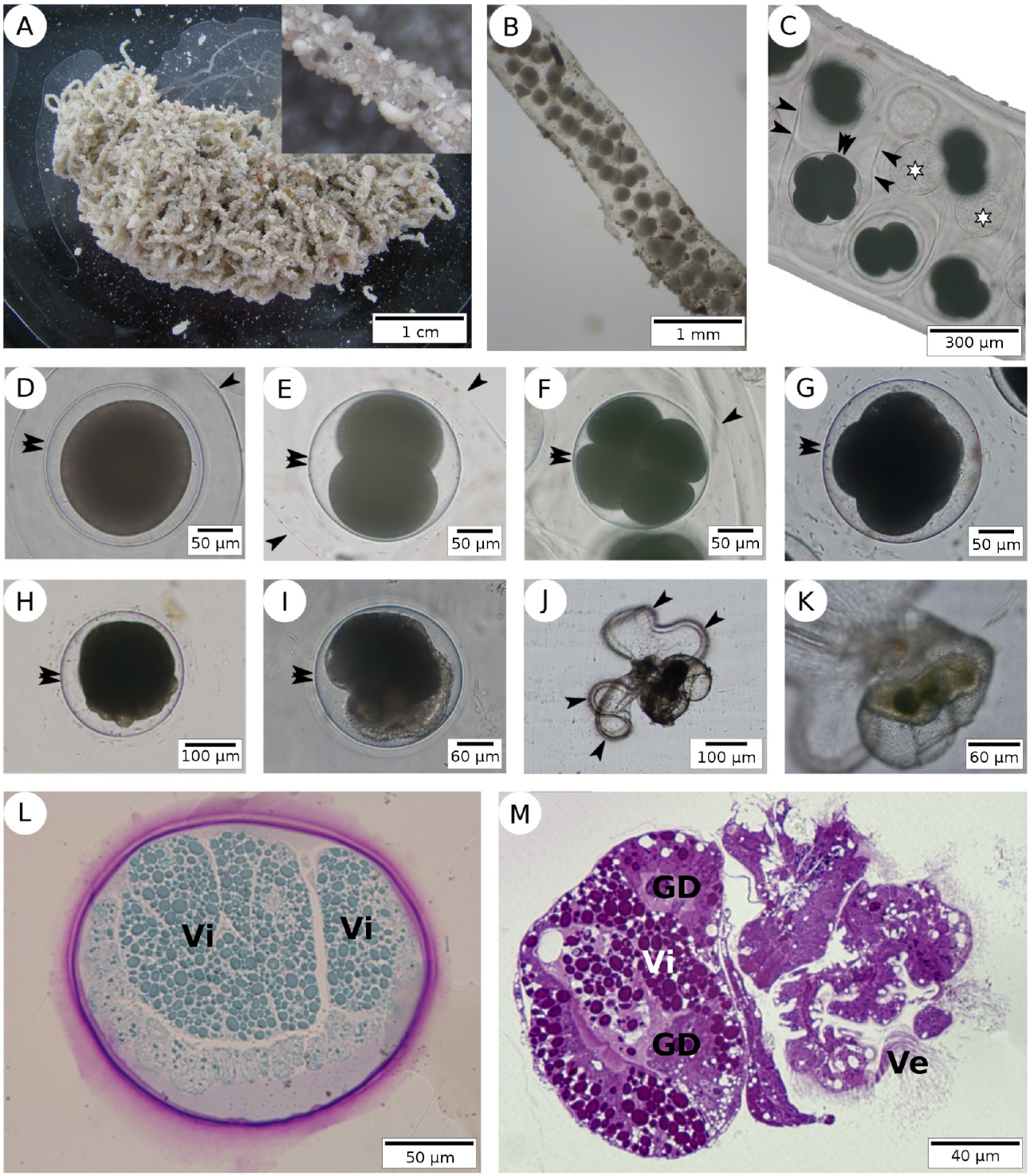

A
1 cm
B
1 mm
C
300 µm
D
50 µm
E
50 µm
F
50 µm
G
50 µm
H
100 µm
I
60 µm
J
100 µm
K
60 µm
L
Vi
Vi
50 µm
M
GD
Vi
GD
Ve
40 µm

PLANCHE 17

Détection des symbiotes au M.E.T. dans une larve véligère de *Strombus costatus* de 29 jours de développement

---

A-C : Observations au M.E.T. de la glande digestive d'une larve véligère de 29 jours de développement. Dans la zone des cellules cryptiques (**CC**) des structures **(S)** semblables aux symbiotes des adultes sont visibles. Les cellules digestives (**CD**) sont également en place et reconnaissables à leurs grains caractéristiques **(étoiles),** en revanche, on ne peut pas dire si les cellules vacuolaires qui contiennent habituellement les symbiotes sont présentes. Dans les cellules cryptiques ont peut reconnaître les sphérocristaux qui sont déjà présents. À plus fort grossissement (**Figure C**), on observe de petites inclusions polymorphes **(têtes de flèche)** à l'intérieur des symbiotes. Ces sous-structures sont semblables à celles observées occasionnellement chez les symbiotes des adultes. **L**, lumière ; **mv**, microvillosités.

D-G : Clichés au M.E.T. de symbiotes de Strombidae adultes qui présentent des inclusions (**têtes de flèche**) semblables à celles détectées chez les symbiotes de la larve de 29 jours. **D**, *S. pugilis* ; **E**, *S. gigas* ; **F, G**, *S. costatus*.

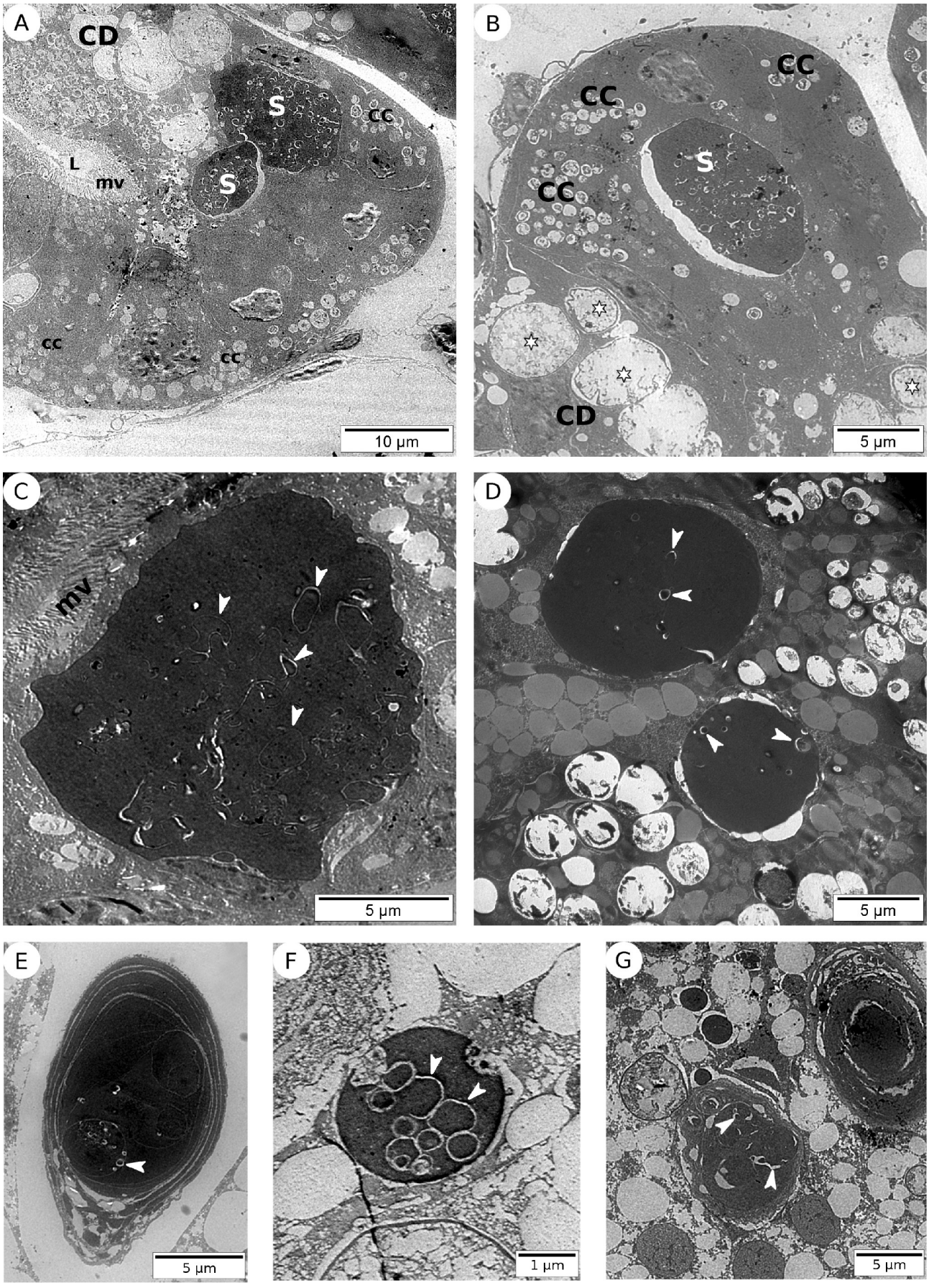

A
CD
S
CC
L
mv
S
CC
CC
10 µm
B
CC
CC
S
CC
CD
5 µm
C
mv
5 µm
D
5 µm
E
5 µm
F
1 µm
G
5 µm

PLANCHE 18

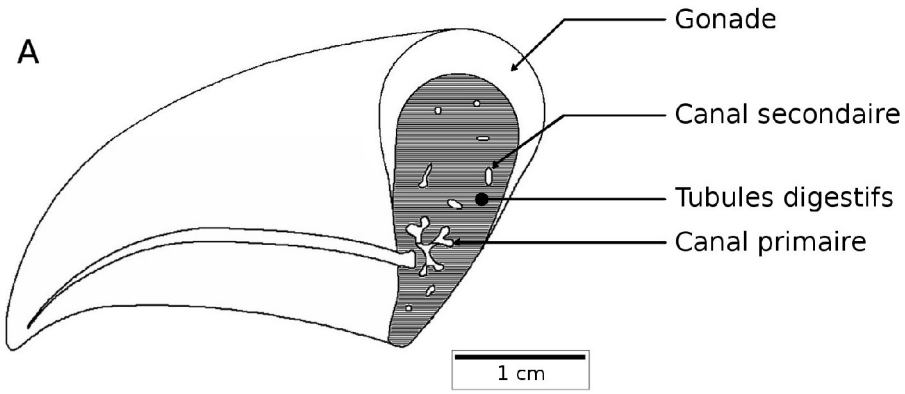
Structure générale de la glande digestive des Strombidae

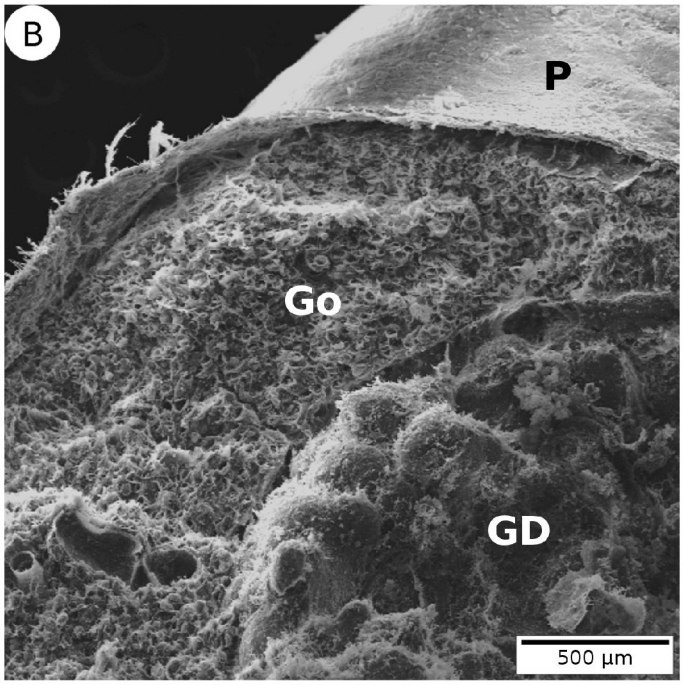
A : Représentation schématique de la glande digestive d'un Strombidae (ce travail). La gonade recouvre la glande digestive, qui est composée de deux lobes inégaux séparés par le canal primaire. La masse de la glande est constituée par les tubules digestifs et les canaux secondaires.

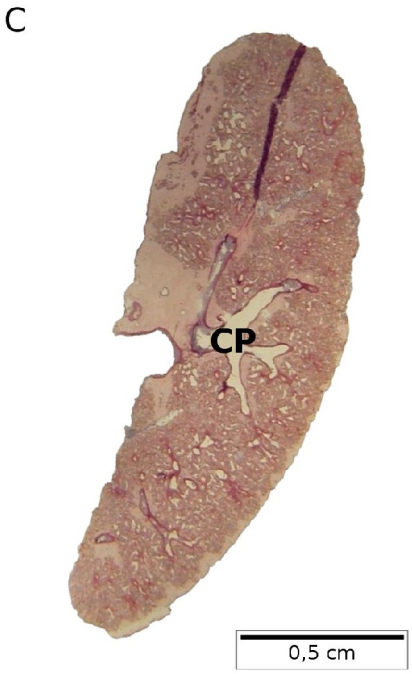
B : Observation du complexe gonade-glande digestive au M.E.B. La glande digestive (**GD**) est recouverte par la gonade (**Go**) et l'ensemble forme la masse viscérale qui est contenue dans une paroi (**P**).

C : Observation d'une coupe transversale de glande digestive. Sur cette observation on retrouve l'organisation présente sur la représentation schématique (**Figure A**). Sur cette coupe, la gonade n'est pas visible car l'individu n'est pas mature. **CP**, canal primaire.

D : Rappel de l'organisation d'un tubule digestif classique (ce travail). L'épithélium du tubule est composé de trois types cellulaires : les cellules digestives (**CD**), les cellules vacuolaires (**CV**) et les cellules cryptiques (**CC**). **L**, lumière.


A
Gonade
Canal secondaire
Tubules digestifs
Canal primaire
1 cm


B
P
Go
GD
500 µm


C
CP
0,5 cm

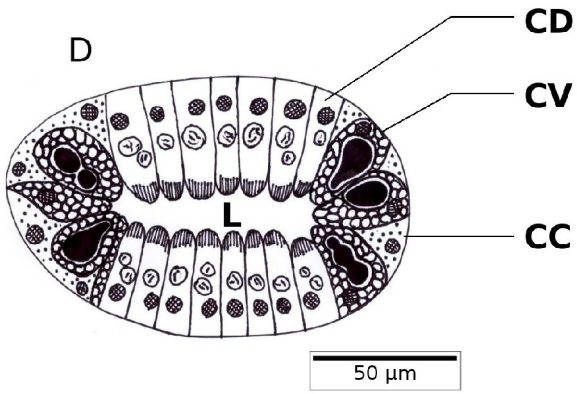

D
CD
CV
L
CC
50 µm

PLANCHE 19

Observation histologique des canaux de *Strombus gigas*

A : Sur ce cliché, quelques tubules digestifs sont visibles dont un qui communique (**flèche courbe**) avec un canal secondaire (**CS**). Les cellules digestives (**CD**) sont reconnaissables à la présence de grains bleus dans leur cytoplasme. Les symbiotes (**flèches**) sont également visibles dans les cellules vacuolaires ainsi que dans la lumière du canal secondaire. La canal est rempli d'un contenu dans lequel on reconnaît les grains bleus des cellules digestives. Il s'agit essentiellement de ce type cellulaire qui se fragmente et se déverse dans la lumière des canaux. L'épithélium du canal secondaire est clairement différent de celui composant les tubules.

B : Sur cette observation, deux canaux secondaires (**CS**) sont visibles. La lumière **(L)** de celui de droite communique (**flèche courbe**) avec la lumière d'un tubule. Cet individu n'est pas dans une phase de destruction des cellules digestives. Les canaux ne présentent donc pas le même contenu que sur le cliché A. Notons le grand nombre de symbiotes (**flèches**) dans les tubules. **CD**, cellule digestive.

C : Coupe transversale d'un canal secondaire (**CS**) entouré de tissu conjonctif (**C**). Le contenu du canal est composé d'une substance de fines particules. L'épithélium du canal est de deux types qui se font face. Le côté gauche du canal est bordé par un épithélium uni-stratifié. Les cellules présentent un noyau médian et des bourgeonnements au pôle apical. Le côté droit du canal est bordé par un épithélium en « dents de scie » (**têtes de flèche**).

D : Détail de l'épithélium uni-stratifié d'un canal secondaire (**CS**). Sous la lame basale, du tissu conjonctif (**C**) est visible ainsi que l'extrémité d'un tubule digestif. L'épithélium du canal présente des bourgeonnements aux pôles apicaux des cellules qui le composent. **CC**, cellule cryptique ; **CV**, cellule vacuolaire ; **S**, symbiote.

E: Détail du troisième type d'épithélium rencontré dans les canaux de la glande. Il s'agit d'un épithélium uni-stratifié de cellules irrégulières au cytoplasme vacuolaire. **L**, lumière.

F : Observation à fort grossissement de l'épithélium en « dents de scie ». De petites vésicules rouges (**têtes de flèche**) sont visibles aux pôles apicaux des cellules épithéliales. Il s'agit de bourgeonnements cellulaires qui sont libérés dans la lumière du tubule. **L**, lumière.

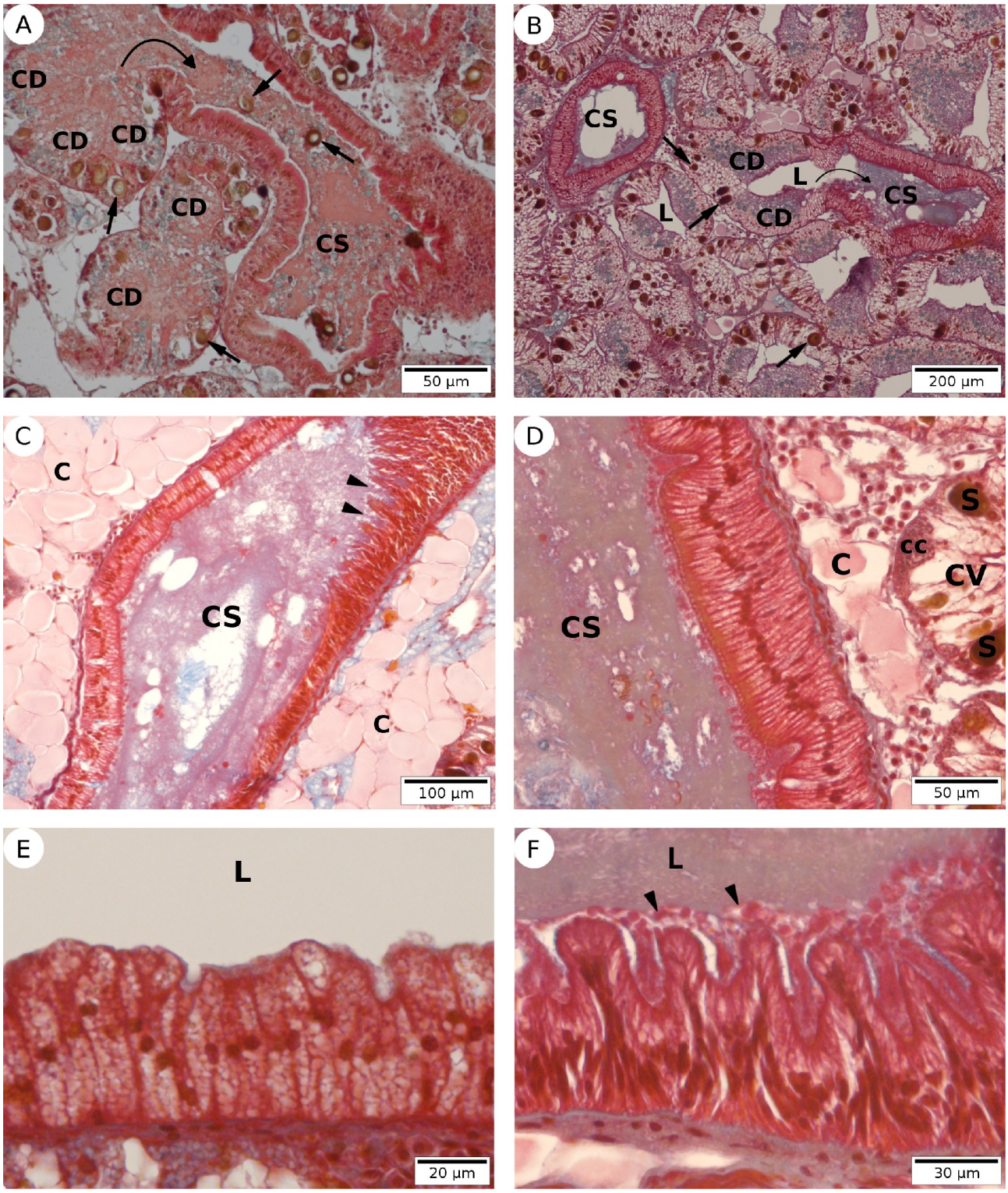

A
CD
CD
CD
CD
CS
CD
50 µm
B
CS
CD
L
CS
L
CD
200 µm
C
C
CS
C
100 µm
D
S
cc
C
CV
CS
S
50 µm
E
L
20 µm
F
L
30 µm

PLANCHE 20

Observation de l'épithélium des canaux de *Strombus gallus* et *Strombus pugilis* en coupe semi-fine et au M.E.T.

A, B : Coupes semi-fines de la glande digestive de *S. gallus*. **Figure A**, observation d'un canal secondaire (**CS**) formé par deux types d'épithélium différents. Le contenu du canal est divisé en deux régions, les deux tiers de gauche sont occupés par un contenu homogène de particules fines alors que le tiers de droite est plein d'un contenu plus hétérogène. Aux deux types de contenu sont associés deux types de cellules épithéliales. Le premier correspond aux cellules bien organisées et présentant des microvillosités (**doubles têtes de flèche**) dont certaines présentent également des bourgeonnements du pôle apical (**flèches**). Le second correspond à l'épithélium en « dents de scie » (**têtes de flèche**). **Figure B**, détail des cellules de l'épithélium en « dents de scie ». Des bourgeonnements (**étoiles**) et des cils (**têtes de flèche**) sont présents au pôles apicaux. **C**, tissu conjonctif ; **CD**, cellule digestive ; **L**, lumière ; **N**, noyau ; **S**, symbiote.

C : Observation au M.E.T. des cellules de l'épithélium uni-stratifié d'un canal secondaire de *S. gallus*. On voit ici que ces cellules ont la particularité de présenter à la fois des microvillosités **(mv)** ainsi que des vésicules de sécrétion (**étoiles**) au pôles apicaux. La **flèche** indique la zone de rupture d'une vésicule de sécrétion avec la cellule. Notons également la présence de grains denses aux électrons dans la partie médiane du cytoplasme. Sur cet échantillon post-fixé à l'osmium, les grains en question sont des gouttelettes lipidiques (**Li**). **L**, lumière ; **N**, noyau.

D : Détail de l'épithélium en « dents de scie » vu au M.E.T. chez *S. gallus*. Les noyaux (**N)** sont le plus souvent localisés au pôles basaux. Des cils (**Ci**) sont visibles aux pôles apicaux. Sur cet échantillon post-fixé à l'osmium, des lipides (**Li**) apparaissent sous forme de vésicules denses aux électrons.

E, F : Observation au M.E.T. des cellules épithéliales d'un canal secondaire de la glande digestive de *S. pugilis*. **Figure E**, épithélium uni-stratifié composé de cellules caractérisées par la présence de microvillosités (**mv**) au pôles apicaux et de replis de la membrane plasmique au pôles basaux. **Figure F**, détail du pôle basal des cellules de la **figure E** qui présente les replis de la membrane plasmique du pôle basal. Dans les replis de la membrane plasmique (**têtes de flèche**) des mitochondries sont présentes. Cette structure particulière correspond à des « pompes mitochondriales » qui ont pour fonction d'effectuer un transport actif d'éléments, à l'encontre d'un gradient par exemple. Sur cette observation, la lame basale (**flèches**) est clairement visible ainsi que des fibres musculaires lisses (**FM**) disposées sous cette dernière. **N**, noyau ; **L**, lumière.

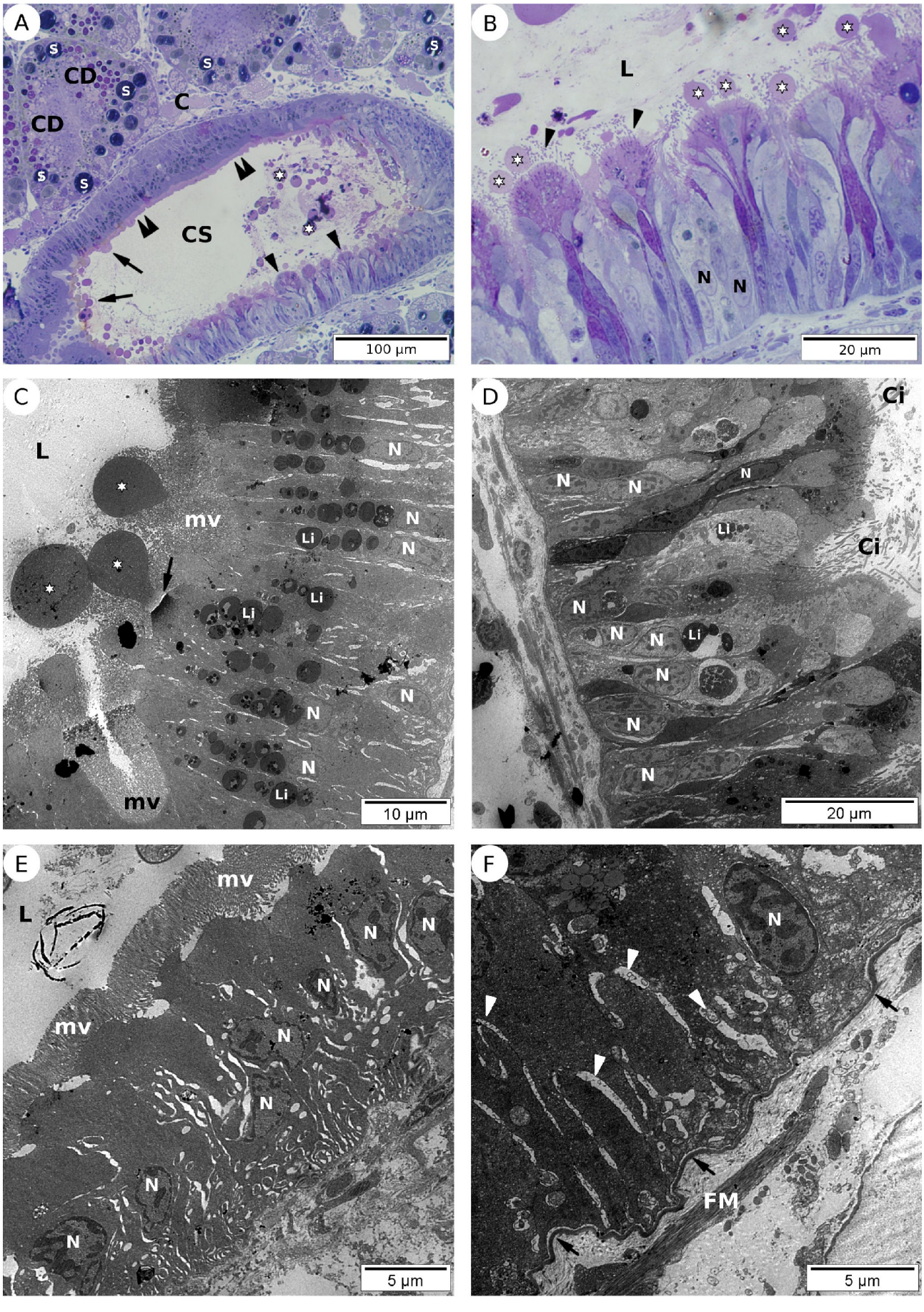

A
S
CD
S
C
CD
S
S
CS
100 µm
B
L
N
N
20 µm
C
L
N
mv
N
Li
N
Li
Li
N
N
N
Li
mv
10 µm
D
Ci
N
N
N
Li
Ci
N
N
N
Li
N
N
N
20 µm
E
mv
L
N
N
N
mv
N
N
N
N
5 µm
F
N
FM
5 µm

PLANCHE 21

Observation au M.E.B. de la paroi des canaux secondaires de *Strombus pugilis*

A : Vue générale d'un canal secondaire constitué de deux types d'épithélium analogues à ceux présentés en coupe transversale sur la planche 20A. La moitié supérieure du canal est formée par l'épithélium en « dents de scie » (**têtes de flèche**) présenté sur la planche 20 à la figure B et D. La moitié inférieure est constituée de cellules épithéliales bourgeonnantes qui correspondent à celles présentées sur la figure C de la planche 20. Les vésicules **(flèches blanches)** bourgeonnantes aux pôles apicaux sont clairement visibles. **Flèche noire**, limite extérieure de la paroi du canal ; **L**, lumière du canal.

B : Détail de l'épithélium en « dents de scie » vu de l'intérieur du canal. La surface de l'épithélium est recouverte d'un tapis de cils.

C : Observation des cellules épithéliales d'un canal fracturé dans sa longueur. Ces cellules présentent des cils **(flèches)** au pôles apicaux. **L**, lumière.

D : Détail des cellules épithéliales au cytoplasme vacuolaire qui sont présentées sur la figure E de la planche 19. La fracture laisse apparaître les nombreuses vacuoles qui constituent le cytoplasme de ces cellules épithéliales. **L**, lumière.

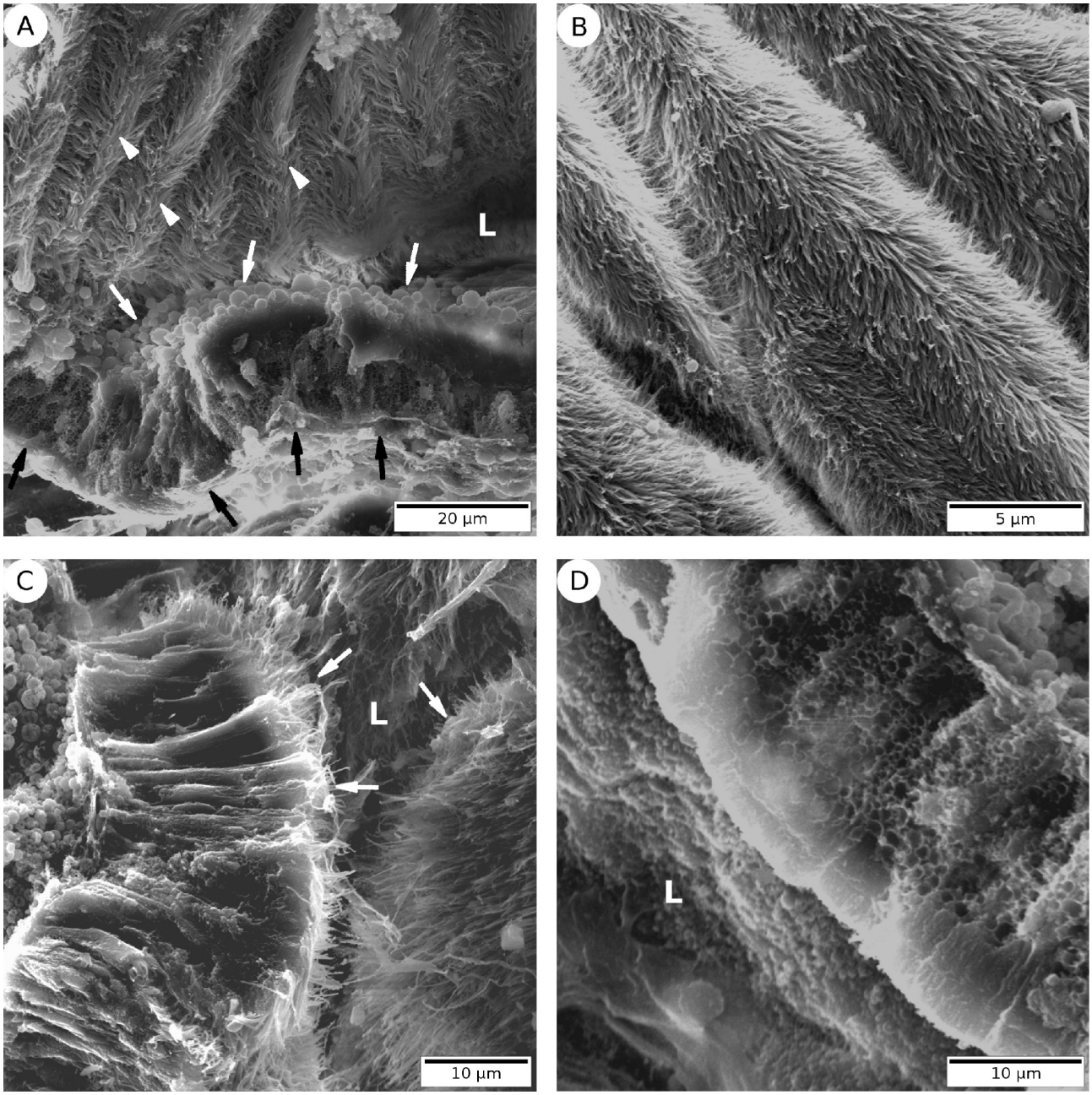

A
L
20 µm
B
5 µm
C
L
10 µm
D
L
10 µm

PLANCHE 22

Observation des cellules digestives des Strombidae en microscopie photonique

---

A : Observation de deux tubules digestifs chez *S. gigas*. Les cellules digestives sont les plus abondantes. Les cellules cryptiques (**CC**) sont également visibles. Les cellules vacuolaires ont été abîmées par la coupe mais les symbiotes (**S**) qu'elles contiennent sont, eux, bien visibles. Chez cet individu l'organisation en trois tiers des cellules digestives n'est pas retrouvée. Le tiers basal constitué de réserves lipidiques est réduit au point de ne pas être observable. Le tiers médian (**TM**) caractérisé par les grains bleus (**têtes de flèche**) est, lui, bien visible. Le tiers apical (**TA**) est également présent. **C**, tissu conjonctif ; **Flèche**, noyau de la cellule digestive.

B : Observation histologique d'une coupe transversale de tubule digestif de *S. raninus*. Trois groupes de cellules digestives (**CD**) sont présents et, intercalées entre eux, des cellules vacuolaires contiennent des symbiotes (**S**). Ici, les trois régions de la cellule digestive sont visibles. Le tiers basal **(TB**), clair, contient des gouttelettes lipidiques qui ont été lavées par les solvants. Le tiers médian **(TM**) est caractérisé par la présence de grains bleus (**têtes de flèche**) qui ne sont pas très contrastés sur cette coupe. Enfin, le tiers apical **(TA**) est plus fortement coloré par la fushine. **C**, tissu conjonctif.

C : Détail des cellules digestives de *S. gigas* en coupe semi-fine. Sur cette observation, les trois régions de la cellule sont présentes dans des proportions équivalentes. L'emplacement des gouttelettes lipidiques lavées par les solvants apparaît sous la forme de petites vésicules qui définissent le tiers basal **(TB**). Les grains bleus **(tête de flèche)** ainsi que des grains légèrement plus clairs sont présents dans le tiers médian **(TM**). Le tiers apical **(TA**) est quant à lui constitué de deux zones. Une première zone composée de nombreuses vésicules fortement colorées par le bleu de toluidine (**1**) et une seconde (**2**), plus claire qui présente de petites vésicules non colorées. **L**, lumière.

D : Coupe semi-fine d'un tubule de *S. raninus* post-fixé au tétroxyde d'osmium. Quatre blocs de cellules digestives (**CD**) sont présents. Des symbiotes (**S**) abîmés par le couteau lors de la coupe sont également visibles. Sur cet échantillon, le tiers basal (**TB**) est plus important. Il est rempli d'un contenu granuleux vert qui correspond aux lipides (**Li**) fixés par l'osmium. Les grains bleus **(têtes de flèche noire**) ainsi que leurs voisins, plus clairs (**têtes de flèche blanche**) sont présent dans le tiers médian (**TM**). **C**, tissu conjonctif ; **TA**, tiers apical.

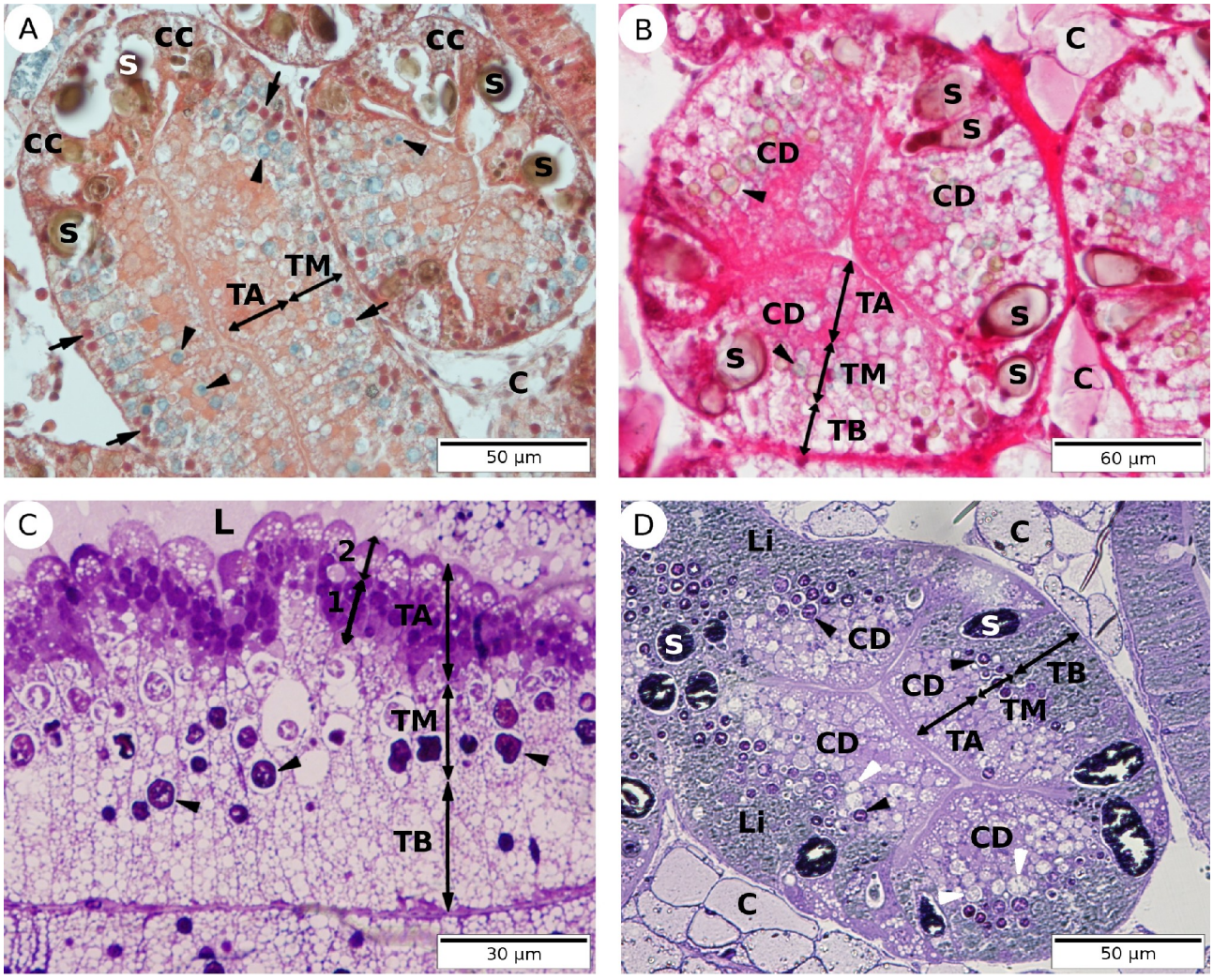

A
CC
S
CC
S
CC
S
S
TM
TA
C
50 µm
B
C
S
S
CD
CD
CD
TA
S
S
TM
S
C
TB
60 µm
C
L
2
1
TA
TM
TB
30 µm
D
Li
C
S
CD
S
TB
CD
TM
TA
CD
Li
CD
C
50 µm

PLANCHE 23

Coupes semi-fines et observation au M.E.T. des cellules digestives des Strombidae

---

A-D : Coupes semi-fines de cellules digestives de *S. costatus* (**Figure A**), *S. gallus* (**Figures B, C**) et de *S. pugilis* (**Figure D**). Sur ces quatre clichés sont représentés les tiers basaux (**TB**), médians (**TM**) et apicaux (**TA**) qui constituent les trois régions de la cellule digestive des Strombidae. Le tiers apical est constitué de réserves lipidiques (**Li**). Cette région de la cellule digestive est parfois très réduite (**Figure C**). Dans le tiers médian, on retrouve les grains bleus (**étoiles blanches**) qui sont fortement colorés par le bleu de toluidine ainsi que des grains plus clairs **(étoiles noires)** qui correspondent probablement à un stade prématuré des grains bleus. Enfin, le tiers apical est composé de deux zones. La première (**1**) dans laquelle on retrouve deux types de vésicules qui présentent différentes affinités pour le colorant. Les plus claires (**têtes de flèche noires**) ont un diamètre d'environ 3 µm. Les plus foncées (**têtes de flèche blanches**) sont plus petites avec un diamètre d'environ 1,5 µm. Dans la deuxième région du tiers apical (**2**), on retrouve des vésicules claires de petit diamètre.
Il est étonnant de noter la présence d'un spermatozoïde atypique **(Spz)** (dédié à la fonction nourricière) sous l'épithélium de cellules digestives sur la figure D. La gonade étant collée à la glande digestive, ce spermatozoïde a dû « se perdre » lors de la dissection de l'organe. **C**, tissu conjonctif ; **CC**, cellule cryptique ; **Double tête de flèche**, microvillosités ; **L**, lumière ; **N**, noyau ; **S**, symbiote.

E : Observation au M.E.T. des cellules digestives de *S. costatus*. Sur cet échantillon, les tiers basaux ne sont pas visibles. Les tiers médians (**TM**) et apicaux (**TA**) occupent tout l'espace de la cellule. Au M.E.T., on retrouve les deux types de grains du tiers médian. Les grains bleus **(étoiles blanches)** apparaissent plus denses aux électrons et les grains moins colorés **(étoiles noires)** sur coupes semi-fines apparaissent également plus clairs ici en microscopie électronique. Le tiers apical est composé de la zone **1** et de la zone **2**. **CC**, cellule cryptique ; **mv**, microvillosités ; **N**, noyau.

F : Coupe semi-fine de *S. gigas* centrée sur les cellules digestives. Sur cet échantillon, le tiers basal (**TB**) est particulièrement important et les gouttelettes lipidiques (**Li**) sont bien visibles. Les grains bleus (**étoiles blanches**) et les grains plus clairs (**étoiles noires**) sont dans le tiers médian (**TM**). Les deux zones (**1**, **2**) du tiers apical (**TA**) sont, ici, clairement identifiables. **L**, lumière ; **N**, noyau.

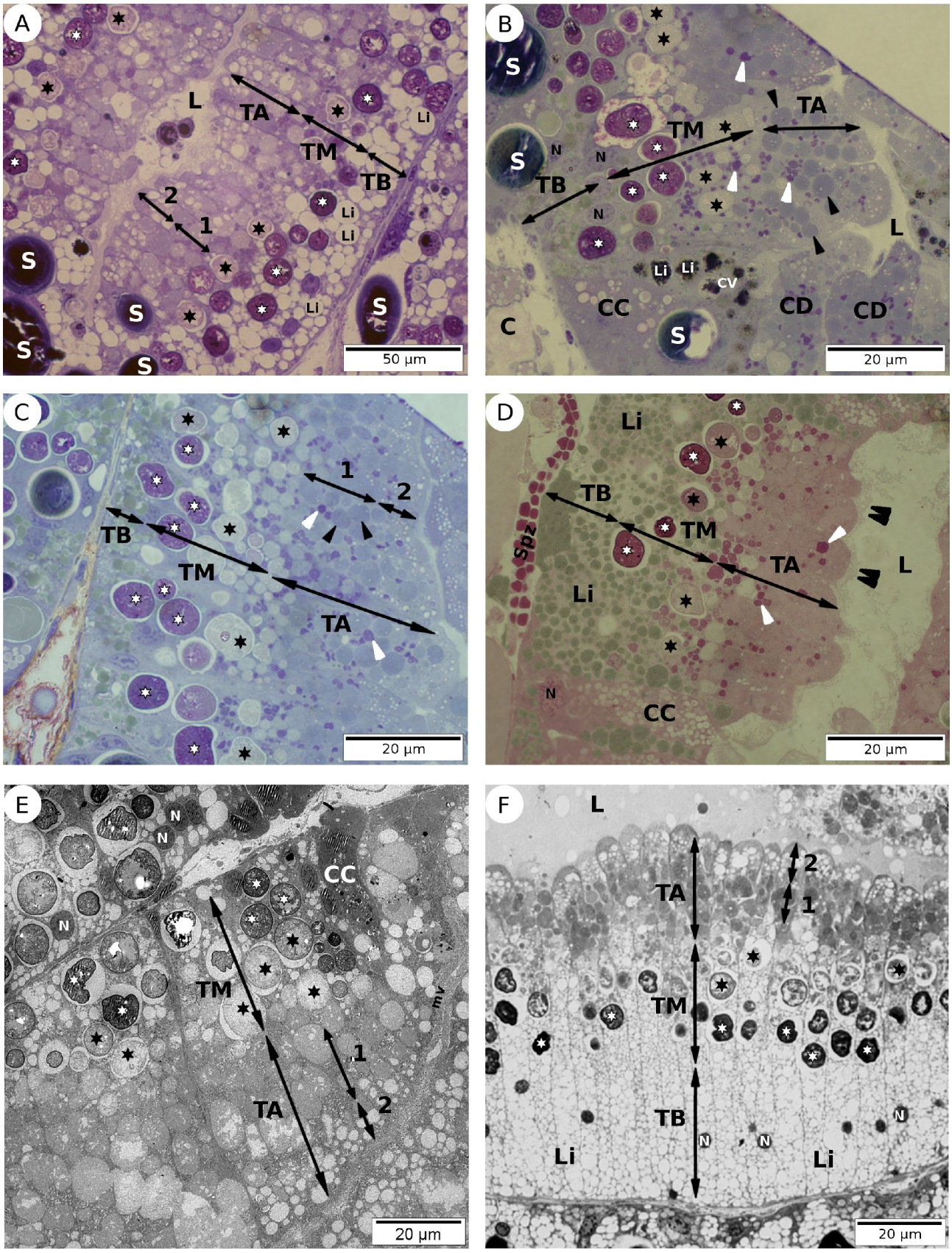

A
L
TA
TM
TB
Li
2
1
S
50 µm
B
S
TA
TM
N
TB
L
Li
CV
CC
CD
C
20 µm
C
1
2
TB
TM
TA
20 µm
D
Li
TB
TM
Spz
TA
L
N
CC
20 µm
E
N
CC
TM
1
2
TA
mv
20 µm
F
L
TA
2
1
TM
TB
N
Li
20 µm

PLANCHE 24

Détail des cellules digestives des Strombidae en microscopie électronique

A : Détail du tiers basal des cellules digestives de *S. gigas* vu au M.E.T. Les nombreuses gouttelettes lipidiques (**Li**) sont clairement visibles. Quelques grains bleus (**étoiles**) du tiers médian sont également visibles. **N**, noyau.

B : Observation au M.E.T. du pôle apical d'une cellule digestive de *S. gigas*. Quelques vésicules claires (**flèches**) aux électrons sont présentes au pôle apical. **Etoile**, grain bleu.

C : Observation à plus fort grossissement des grains bleus des cellules digestives de *S. gigas*. Notons la paroi épaisse et dense aux électrons qui entoure les grains arrivés à maturité. Sur ce cliché, il semble que le granule de droite soit en train de fusionner (**double flèche**) avec une grosse vésicule qui correspond sans doute à un granule plus clair.

D : Observation d'une fracture de la glande digestive de *S. raninus* vue au M.E.B. Il s'agit d'un groupe de cellules digestives. On y retrouve les trois régions : tiers basal (**TB**), tiers médian (**TM**) et tiers apical (**TA**). Le tiers apical est particulièrement reconnaissable puisqu'il contient de nombreuses vésicules vides qui correspondent aux gouttelettes lipidiques après lavage par les solvants. **L**, lumière.

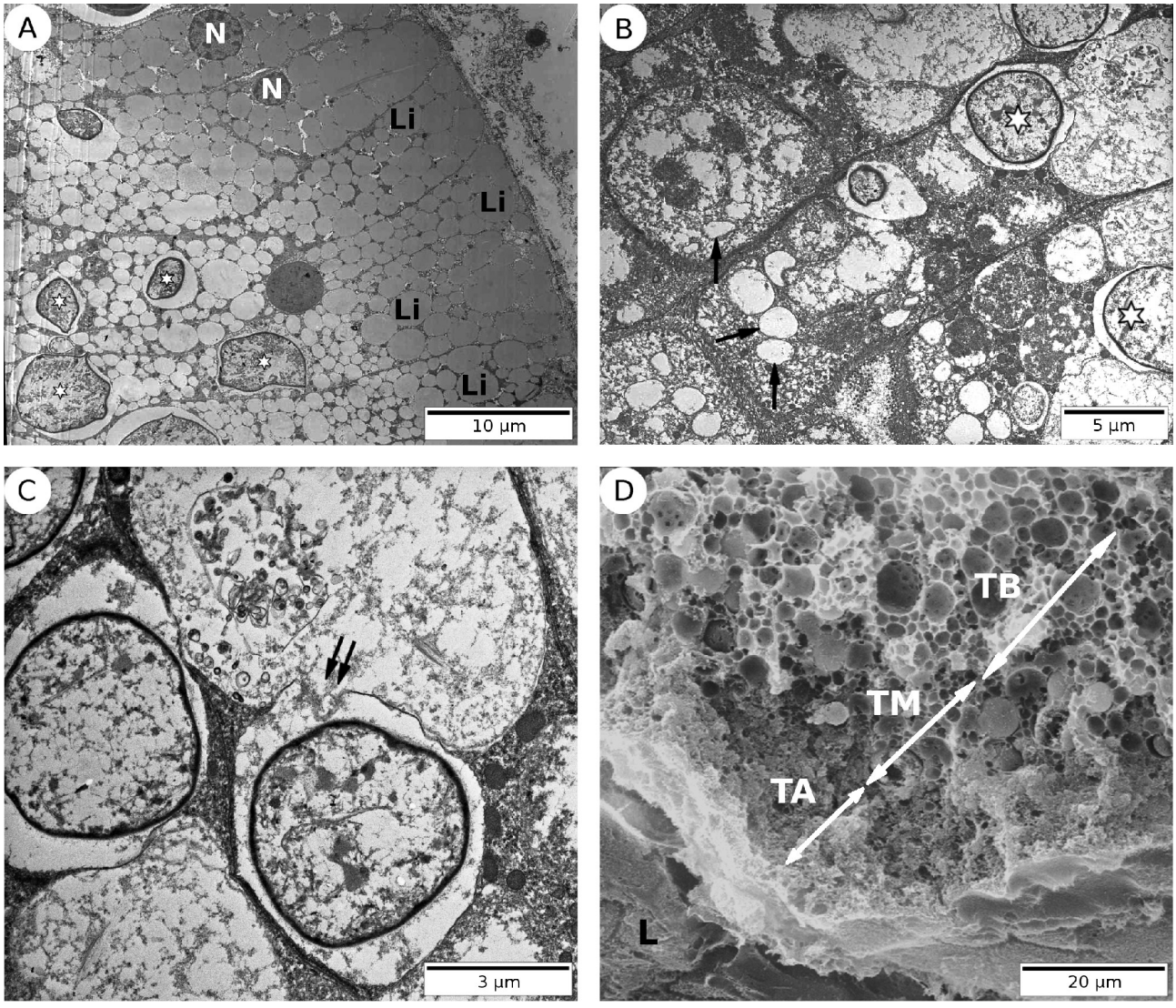

A
N
N
Li
Li
Li
Li
10 µm
B
5 µm
C
3 µm
D
TB
TM
TA
L
20 µm

PLANCHE 25

Présentation des cellules vacuolaires de Strombidae

A-C : Observations de coupes semi-fines de tubules digestifs en microscopie photonique. **Figure A**, Tubule digestif de *S. gallus* centré sur une zone de cellules vacuolaires (**CV**) et de cellules cryptiques (**CC**). Les cellules vacuolaires sont caractérisées par la présence de gouttelettes lipidiques qui sont conservées sur cet échantillon post-fixé à l'osmium. Les lipides apparaissent sous forme de granules irréguliers (**têtes de flèche**) et fortement colorés par le bleu de toluidine. Sur ce cliché, les microvillosités (**flèches**) aux pôles apicaux des cellules forment une bande bleue claire. **Figure B**, Vue partielle d'un tubule de *S. costatus*. **Figure C**, Observation des cellules digestives d'un échantillon de *S. pugilis* post-fixé à l'osmium. Bien que ce type cellulaire soit généralement de forme pyramidale, elles apparaissent ici de forme irrégulière. Elles sont tout de même aisément reconnaissables par la présence de gouttelettes lipidiques qui sont métachromatiques et conservées grâce à la post-fixation Sur ce cliché, les noyaux (**N**) sont bien visibles et présentent parfois un gros nucléole. Le pôle basal présente des replis de la membrane plasmique (**double flèche**). **C**, tissu conjonctif ; **CD**, cellule digestive ; **L**, lumière ; **S**, symbiote.

D : Observation des cellules vacuolaires (**CV**) et cryptiques (**CC**) de la glande digestive de *S. gigas* au M.E.T. Ici, les cellules vacuolaires sont de forme pyramidale, comme les cellules cryptiques. Les deux types cellulaires « s'emboîtent » pour former un épithélium pseudo-stratifié. **L**, lumière ; **S**, symbiote.

E : Fracture de la glande digestive de *S. raninus* observée au M.E.B. Les cellules vacuolaires (**CV**) sont reconnaissables par la présence de nombreuses vacuoles vidées par le traitement aux solvants. La présence des symbiotes (**S**) indique également que l'on se trouve dans ce type cellulaire. Notons la présence de microvillosités (**mv**) lesquelles forment un tapis homogène aux pôles apicaux des cellules vacuolaires. **L**, lumière.

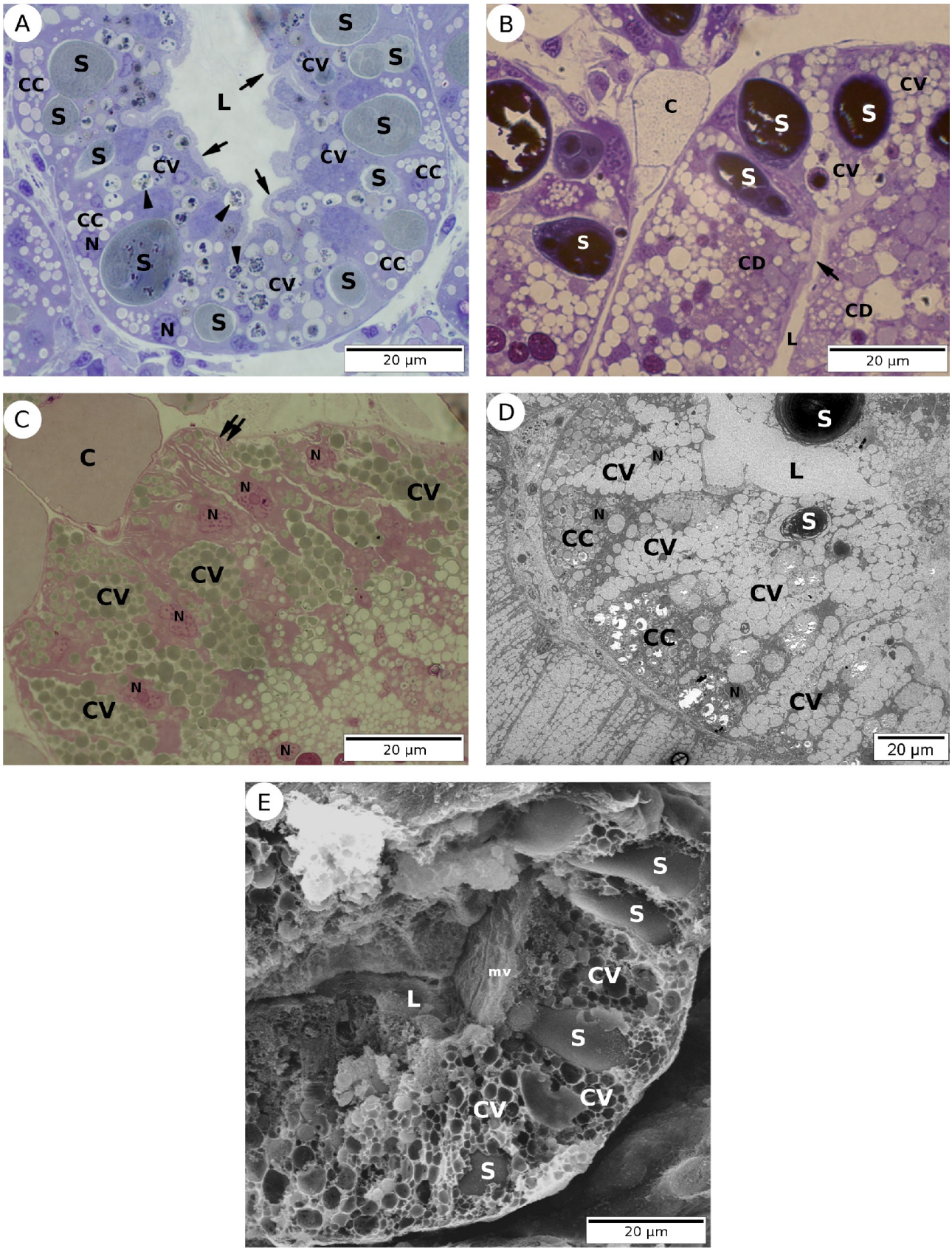

A
S
CC
S
S
L
CV
S
S
CV
CV
S
CC
CC
N
S
CV
S
CC
N
S
20 µm
B
C
S
S
CV
S
CV
S
CD
CD
L
20 µm
C
C
N
N
N
CV
CV
CV
N
N
CV
N
20 µm
D
S
CV
N
L
N
S
CC
CV
CV
CC
N
CV
20 µm
E
S
S
mv
CV
L
S
CV
CV
S
20 µm

PLANCHE 26

Présentation des cellules cryptiques des Strombidae

A, B : Observation histologique des cellules cryptiques de *S. pugilis*. Sur la **figure A**, on retrouve la forme pyramidale caractéristique des cellules cryptiques (**CC**) ainsi que l'aspect granuleux de leur cytoplasme. Le noyau (**N**) en position basale est fortement coloré. Des symbiotes (**S**) semblent se trouver dans le cytoplasme des cellules cryptiques mais il ne s'agit peut-être que d'une impression due au plan de coupe. Sur la **figure B**, l'échantillon a été fixé au bouin. Le bleu alcian à pH 2,5 colore alors de petits granules (**têtes de flèche**) présents dans l'ensemble du cytoplasme des cellules cryptiques. **C**, tissu conjonctif ; **CD**, cellule digestive ; **L**, lumière.

C-F : Coupes semi-fines de la glande digestive observées au microscope photonique. **Figure C**, vue partielle d'un tubule digestif de *S. gigas* présentant des cellules cryptiques (**CC**) au cytoplasme granuleux, et des cellules vacuolaires (**CV**). Les deux types cellulaires sont de forme pyramidale et s'emboîtent pour former un épithélium pseudo-stratifié. **Figure D**, Cellules cryptiques de *S. gallus*. Une des cellules cryptiques est entourée en pointillés. Elle présente une forme pyramidale caractéristique, un noyau central de plus de 5 µm et de nombreux sphérocristaux (**têtes de flèche**) qui correspondent aux points bleus de la figure B. À la différence des deux précédentes observations, la **figure E** (*S. pugilis*) présente des cellules cryptiques de forme irrégulière. Elles sont tout de même reconnaissables par le fait qu'elles sont intercalées entre des cellules vacuolaires et qu'elles présentent des sphérocristaux. **Figure F**, autre vue des cellules cryptiques de *S. gallus.* Les cellules cryptiques sont plus petites et présentes de petits amas de sphérocristaux. **C**, tissu conjonctif ; **CD**, cellule digestive ; **Li**, gouttelette lipidique ; **mv**, microvillosités ; **N**, noyau ; **S**, symbiote.

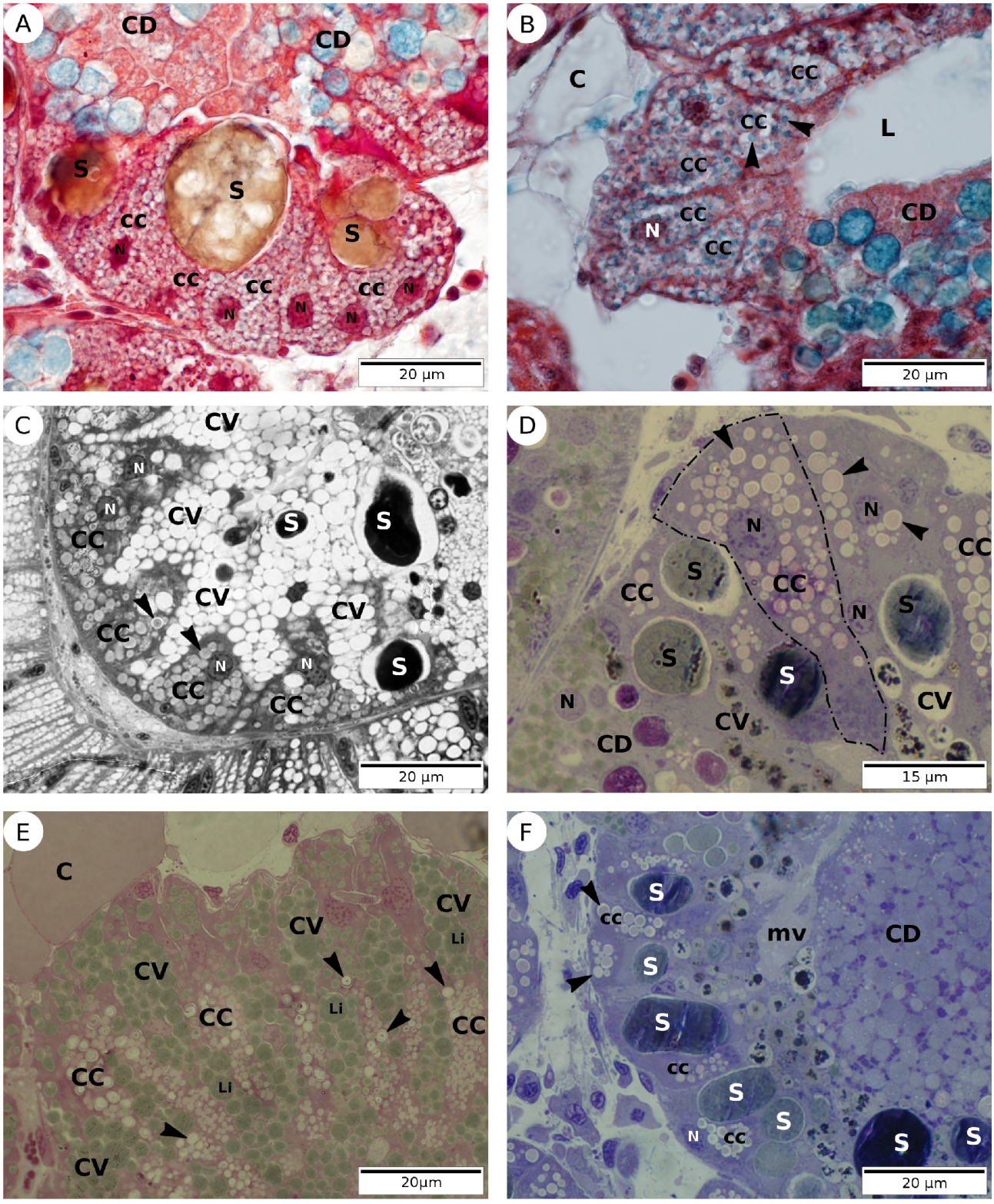

A
CD
CD
S
S
S
CC
N
CC
CC
CC
N
N
N
N
20 µm
B
C
CC
CC
L
CC
CC
N
CD
CC
20 µm
C
CV
N
N
CV
S
S
CC
CV
CV
CC
N
N
S
CC
CC
20 µm
D
N
N
N
CC
S
CC
CC
N
S
S
S
N
CV
CV
CD
15 µm
E
C
CV
CV
Li
CV
Li
CC
CC
CC
Li
CV
20µm
F
S
cc
mv
CD
S
S
cc
S
S
N
cc
S
S
S
20 µm

PLANCHE 27

Observation en microscopie électronique des cellules cryptiques de

Strombus gallus

A : Vue d'ensemble d'une cellule cryptique (**entourée en pointillés**) au M.E.T. Notons la taille du noyau (+/- 10 µm) ainsi que la présence de nombreux sphérocristaux (**têtes de flèche**) de taille et de forme diverses. Au pôle basal, des replis membranaires sont visibles (**flèches**). Notons également la présence de tissu musculaire lisse (**double tête de flèche**) sous la lame basale. **N**, noyau ; **S**, symbiote.

B : Observation des cellules cryptiques (**CC**) et des symbiotes (**S**) au M.E.B. Les cellules cryptiques sont reconnaissables aux nombreuses petites sphères (**têtes de flèche**) de diamètre régulier de l'ordre de 1 à 3 µm. Ces sphères correspondent aux sphérocristaux que l'on observe en coupe au M.E.T. Notons que l'aspect ridé des symbiotes est probablement dû à la préparation de l'échantillon. **L**, lumière.

C : Agrandissement du pôle basal de la cellule cryptique présenté sur la figure A. Des replis de la membrane plasmique (**flèches noires**) en contact avec la lame basale (**flèches blanches**) permettent à la cellule d'augmenter considérablement la surface d'échange au pôle basal. Notons également la présence de deux sphérocristaux (**têtes de flèche**) dont un à un stade précoce de formation. Le cytoplasme dans l'environnement des sphérocristaux est riche en réticulum endoplasmique granuleux (**REG**). **Fm**, fibres musculaires.

D-F : Observation au M.E.T. des cellules cryptiques de *S. gallus* à différents grossissements. **Figure D**, vue d'ensemble de plusieurs cellules cryptiques. Leur cytoplasme contient un grand nombre de sphérocristaux (**têtes de flèche**). **Figure E**, agrandissement présentant le cytoplasme d'une cellule cryptique avec ses sphérocristaux et la grande quantité de réticulum endoplasmique (**RE**) qui les entoure. **Figure F**, détail des quelques sphérocristaux. Notons l'alternance de couches plus ou moins denses aux électrons. **N**, noyau ; **S**, symbiote.

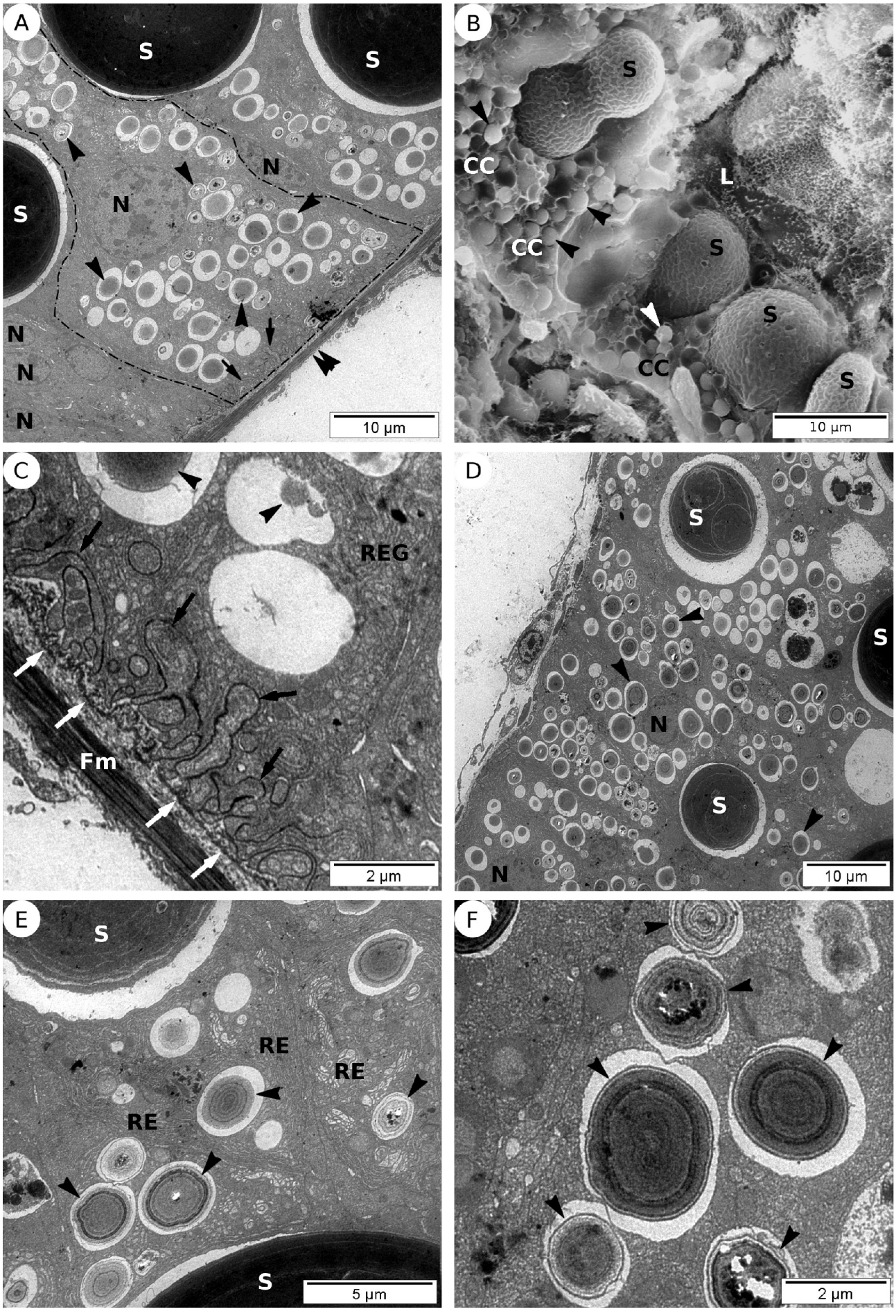

A
S
S
S
N
N
N
N
N
10 µm
B
S
CC
L
CC
S
S
CC
S
10 µm
C
REG
Fm
2 µm
D
S
S
N
S
N
10 µm
E
S
RE
RE
RE
S
5 µm
F
2 µm

PLANCHE 28

Observation en microscopie électronique des cellules cryptiques de

Strombus gigas

A-C : Observation au M.E.T. des cellules cryptiques à différents grossissements. **Figure A**, vue d'ensemble d'une cellule cryptique avec son noyau (**N**) central proéminent. Le cytoplasme contient un grand nombre de sphérocristaux (**têtes de flèche**) dans lesquels on ne distingue pas de couches concentriques. Ils sont, ici d'aspect homogène. Deux cellules vacuolaires (**CV**) sont partiellement visibles. Elles sont reconnaissables par la présence de gouttelettes lipidiques (**Li**). **Figure B**, agrandissement présentant des sphérocristaux caractéristiques formés par l'accumulation de couches concentriques plus ou moins denses aux électrons. **Figure C**, vue d'ensemble d'une cellule cryptique (**CC**) qui présente la forme pyramidale caractéristique (**pointillés**) . Elle est encastrée entre deux cellules vacuolaires (**CV**) dont le cytoplasme est plein de gouttelettes lipidiques.

D : Fracture d'un tubule digestif vue au M.E.B. L'épithélium qui constitue la paroi du tubule est délimité par des pointillés. Ici, l'épithélium est constitué de cellules cryptiques (**CC**) et de cellules vacuolaires qui contiennent les symbiotes (**S**). Le cytoplasme des cellules cryptiques est occupé par des sphérocristaux (**têtes de flèche**) qui ont l'aspect de petites sphères régulières. **L**, lumière.

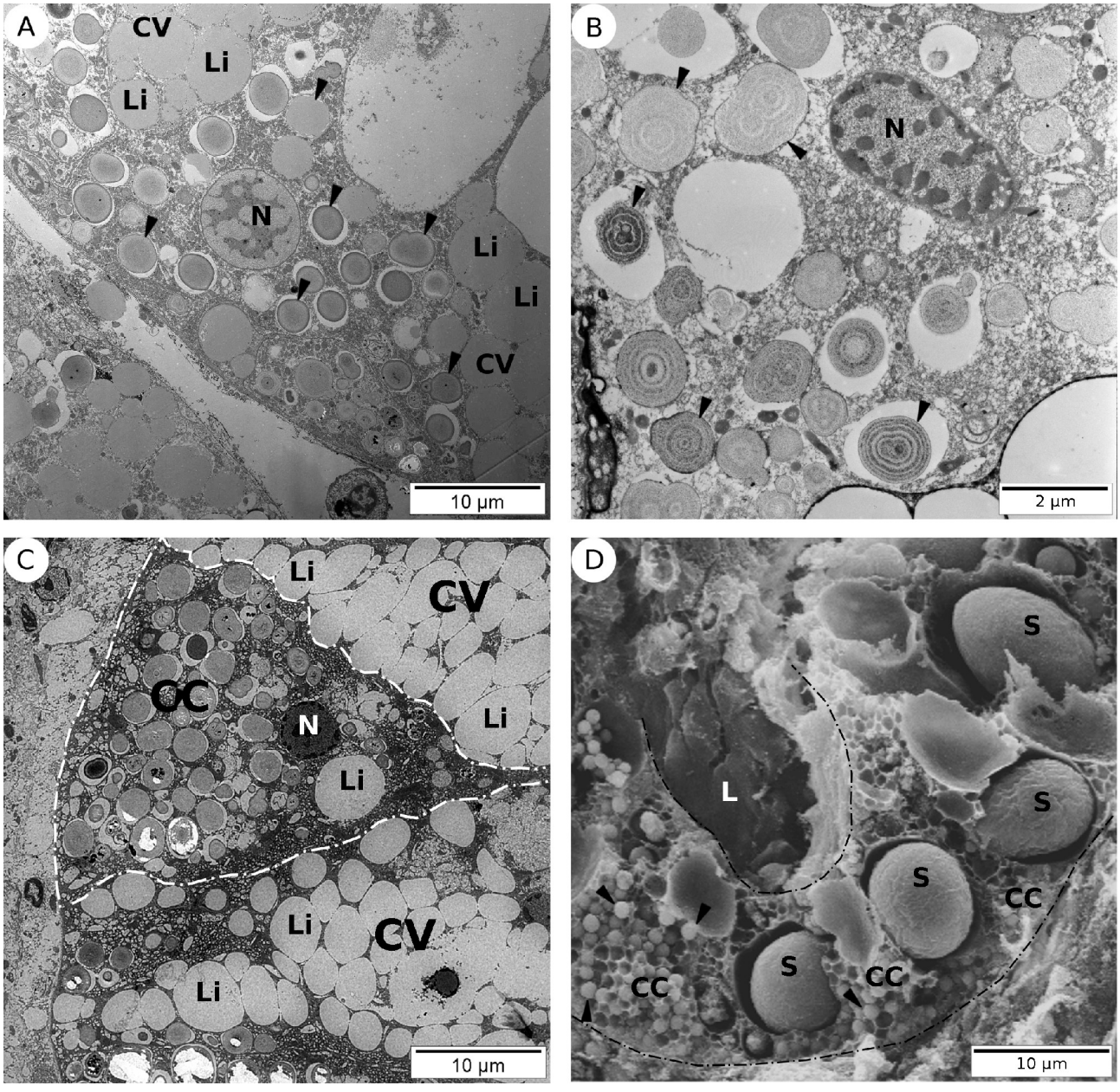

A
CV
Li
Li
N
Li
Li
CV
10 µm
B
N
2 µm
C
Li
CV
CC
N
Li
Li
Li
CV
Li
10 µm
D
S
L
S
S
CC
CC
S
CC
10 µm

PLANCHE 29

Observation en microscopie électronique des cellules cryptiques de

Strombus pugilis et *Strombus raninus*

A : Vue d'ensemble d'une cellule cryptique de *S. raninus* au M.E.T. La cellule est délimitée par des pointillés. Elle présente une forme pyramidale caractéristique, un noyau (**N**) central proéminent (+/- 10µm), de nombreux sphérocristaux (**têtes de flèche**) ainsi qu'un réticulum endoplasmique (**RE**) largement développé. Au pôle basal de la cellule, la lame basale (**flèche**) se décolle localement de la membrane plasmique. De part et d'autre de la cellule cryptique, des gouttelettes lipidiques (**Li**) conservées par l'osmium sont visibles, traduisant la présence de cellules vacuolaires. **Encart**, détail à fort grossissement d'un sphérocristal de *S. raninus*.

B : Observation au M.E.B. des cellules cryptiques (**CC**) de *S. raninus.* Les cellules cryptiques dont on ne distingue pas bien les limites, sont reconnaissables grâce aux sphérocristaux (**têtes de flèche**). Des symbiotes (**S**) sont également présents.

C : Détail au M.E.T. de deux sphérocristaux de *S. pugilis*. Ils sont formés par l'accumulation de couches successives concentriques plus ou moins denses aux électrons. On voit, ici, des couches fines denses aux électrons et bien nettes (**têtes de flèche**). D'autres sont formées par une matrice hétérogène moins dense aux électrons (**étoiles**). Autour des sphérocristaux, on observe du réticulum endoplasmique granuleux (**REG**) en grande quantité. Le détail du réticulum est donné dans l'**encart** en bas à gauche. On y voit l'aspect granuleux donné par les ribosomes (**flèches**).

D : Vue d'ensemble d'une cellule cryptique (CC) au M.E.B. à partir d'une fracture de la glande digestive de *S. pugilis*. Le M.E.B. nous donne une représentation dans l'espace de la cellule cryptique. On retrouve la forme pyramidale caractéristique. La cellule, qui est fracturée localement, laisse apparaître le contenu de son cytoplasme avec notamment des sphérocristaux (**têtes de flèche**). **S**, symbiote.

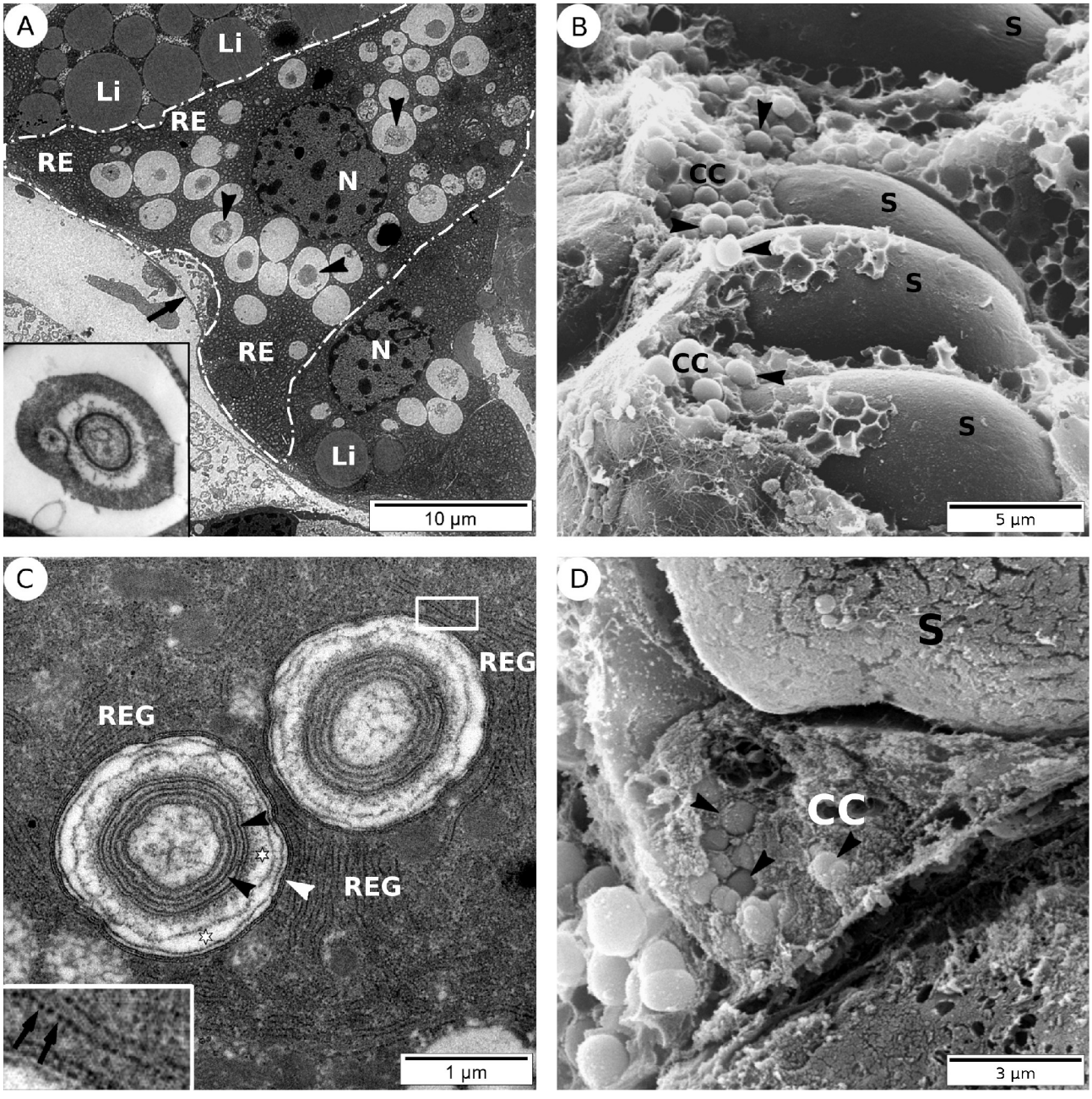

A
Li
Li
RE
RE
N
RE
N
Li
10 µm
B
S
CC
S
S
CC
S
5 µm
C
REG
REG
REG
1 µm
D
S
CC
3 µm

PLANCHE 30

Observation histologique de la glande digestive de *Strombus pugilis* à trois stades différents du cycle de la glande digestive

---

A : « Phase de destruction ». Les tubules digestifs (**T**) sont remplis par les cellules épithéliales en destruction. L'ensemble se déverse (**flèches**) dans les canaux secondaires (**CS**). Lors de la destruction, des symbiotes (**têtes de flèche**) sont évacués en même temps que les cellules épithéliales fragmentées. **C**, tissu conjonctif.

B : « phase de construction ». Les cellules épithéliales sont de taille moyenne et elles n'occupent pas tout l'espace du tubule. Une large lumière (**L**) est alors visible. **CD**, cellule digestive ; **CV**, cellule vacuolaire ; **S**, symbiote.

C : « phase finale ». Les tubules digestifs sont le plus souvent dans cette configuration. Les cellules digestives (**CD**) sont grandes et remplissent la quasi-totalité des tubules. La lumière (**L**) est réduite au maximum. **CV**, cellule vacuolaire ; **S**, symbiote.

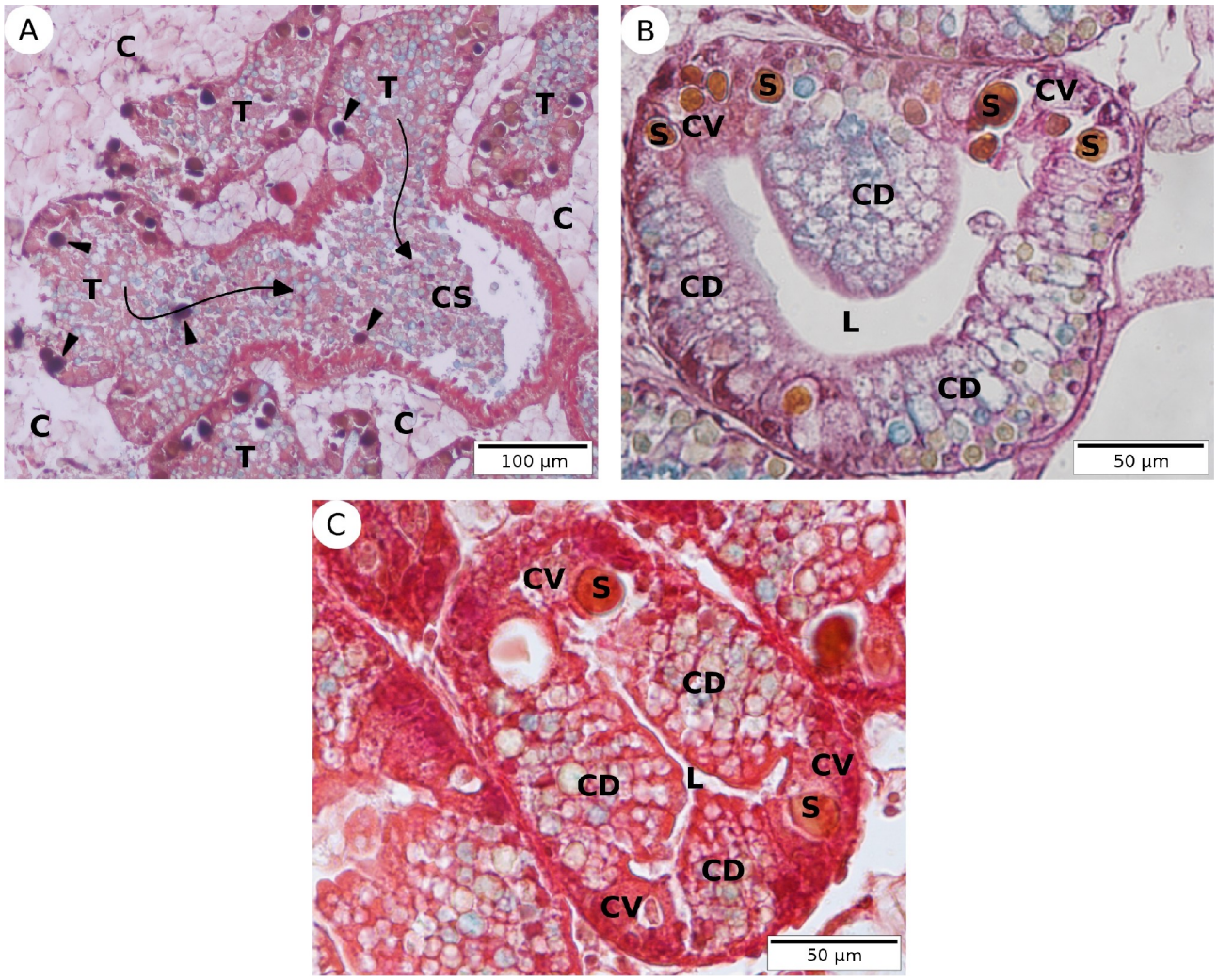

A
C
T
T
T
C
T
CS
C
C
T
100 µm
B
S
CV
S
S
CV
S
CD
CD
L
CD
50 µm
C
CV
S
CD
CD
L
CV
S
CD
CV
50 µm

PLANCHE 31

Détection de l'activité arylsulfatase dans la glande digestive de

Strombus gigas

A, B : Coupes semi-fines de la glande digestive de *S. gigas* après incubation dans le milieu témoin (**Figure A**) et dans le milieu de révélation de l'arylsulfatase (**Figure B**). Des précipités jaunes témoignant d'une activité arylsulfatase (**As**) sont détectés dans la moitié supérieure des cellules digestives (**CD**) sur les échantillons incubés dans le milieu de révélation (**Figure B**). La même zone ne présente pas de précipités sur les échantillons provenant du milieu témoin (**Figure A**). **L**, lumière ; **S**, symbiote.

C-E : Observation au M.E.T. d'échantillons de glande digestive incubés dans le milieu de révélation de l'arylsulfatase. **Figure C**, vue d'ensemble des cellules épithéliales d'un tubule digestif. Les trois types cellulaires sont présents, les cellules cryptiques (**CC**), les cellules vacuolaires (**CV**) et les cellules digestives (**CD**). Seules ces dernières présentent une activité arylsulfatase. Sur ce cliché, les précipités apparaissent en blanc. **Figure D**, observation des cellules digestives à plus fort grossissement. Le contraste de la micrographie a été inversé afin de faire ressortir les précipités en noir. On retrouve ici l'organisation en trois régions : le tiers basal (**TB**) qui est très réduit, le tiers médian (**TM**) qui contient les grains bleus (**étoiles**) et le tiers apical (**TA**) dans lequel on détecte une activité arylsulfatase. Les précipités sont détectés dans des vésicules de la zone **1** du tiers apical. **Figure E**, détail du tiers apical des cellules digestives. La zone 1 du tiers apical est caractérisée par la présence de vésicules de 3 à 7 µm de diamètre qui présente une activité arylsulfatase. Dans la zone **2**, on retrouve des vésicules de plus petit diamètre (1 à 3 µm). Les vésicules localisées près du pôle apical (**doubles flèches)** ne présentent pas d'activité arylsulfatase, en revanche, celles à la limite de la zone 1 (**flèches**) présentent des précipités. **L**, lumière ; **mv**, microvillosités ; **S**, symbiote.

F : Spectre caractéristique du baryum (Ba-M_5) obtenu par EELS en se focalisant sur un petit précipité (**encart de gauche**) de la zone positive à l'arylsulfatase. Cette analyse, ainsi que la cartographie de l'élément baryum (**encart de droite**) nous permet de confirmer la présence de baryum dans les précipités. Cela confirme dans le même temps que les précipités observés sont bien caractéristiques de l'activité de l'enzyme.

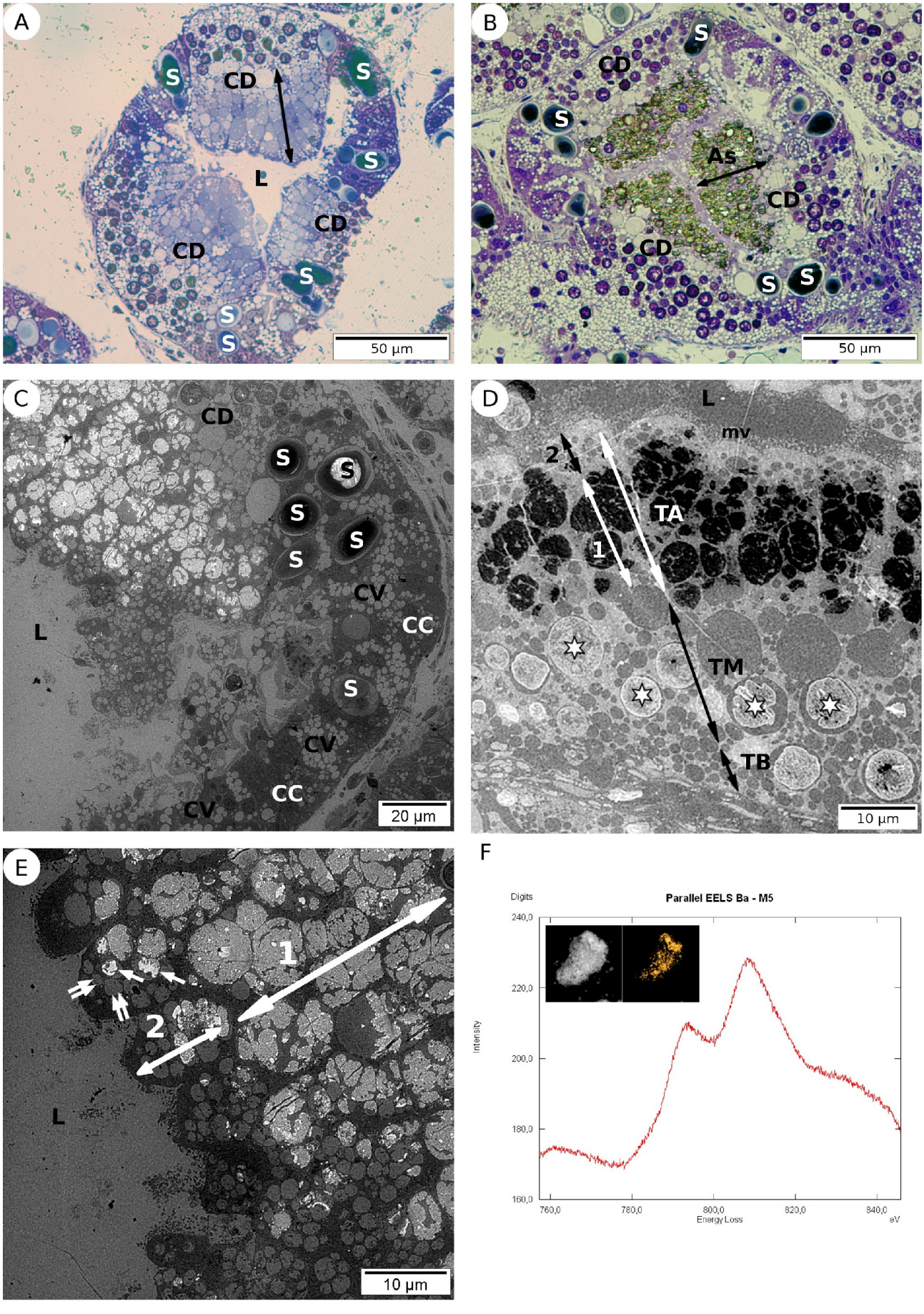

A
S
CD
S
S
L
CD
CD
S
S
S
50 µm
B
S
CD
S
As
CD
CD
S
S
50 µm
C
CD
S
S
S
S
S
CV
CC
L
S
CV
CC
CV
20 µm
D
L
mv
2
TA
1
TM
TB
10 µm
E
1
2
L
10 µm
F
Digits
Parallel EELS Ba - M5
240,0
220,0
200,0
180,0
160,0
Intensity
760,0
780,0
800,0
820,0
840,0
Energy Loss
eV

PLANCHE 32

Détection de l'activité phosphatase acide dans la glande digestive de

Strombus gigas

A, B : Observation au M.E.T. de la glande digestive de *S. gigas* après incubation dans le milieu de révélation de la phosphatase acide (**Figure A**) et dans le milieu témoin (**Figure B**). Des précipités denses aux électrons sont détectés sur l'échantillon incubé dans le milieu de révélation. Les précipités sont localisés au niveau des microvillosités (**flèches**) des cellules épithéliales ainsi qu'au niveau des noyaux (**N**). L'échantillon incubé dans le milieu témoin ne présente pas de précipités (**Figure B**). **CC**, cellule cryptique ; **CD**, cellule digestive ; **CV**, cellule vacuolaire ; **Étoile**, grain bleu ; **L**, lumière ; **S**, symbiote.

C, D : Observation de la réaction à la phosphatase acide au niveau des sphérocristaux d'un échantillon incubé dans le milieu de révélation (**Figure C**) et dans le milieu témoin (**Figure D**). Des précipités sont détectés au niveau des sphérocristaux (**têtes de flèche**) des échantillons incubés dans le milieu de révélation. Le détail d'un d'entre eux est donné dans l'**encart** de la **figure C**. Sur le témoin, les sphérocristaux ne présentent pas de précipités. **N**, noyau.

E : Coupe semi-fine d'un échantillon de glande digestive incubé dans le milieu de révélation de la phosphatase acide. Les précipités de plomb ont été révélés par du sulfure d'ammonium, ils apparaissent ainsi sous la forme de petits précipités noirs en microscopie photonique. On observe ici que la réaction à la phosphatase acide (**flèches**) est majoritairement localisée dans les cellules digestives (**CD**). **Étoile**, grain bleu ; **S**, symbiote.

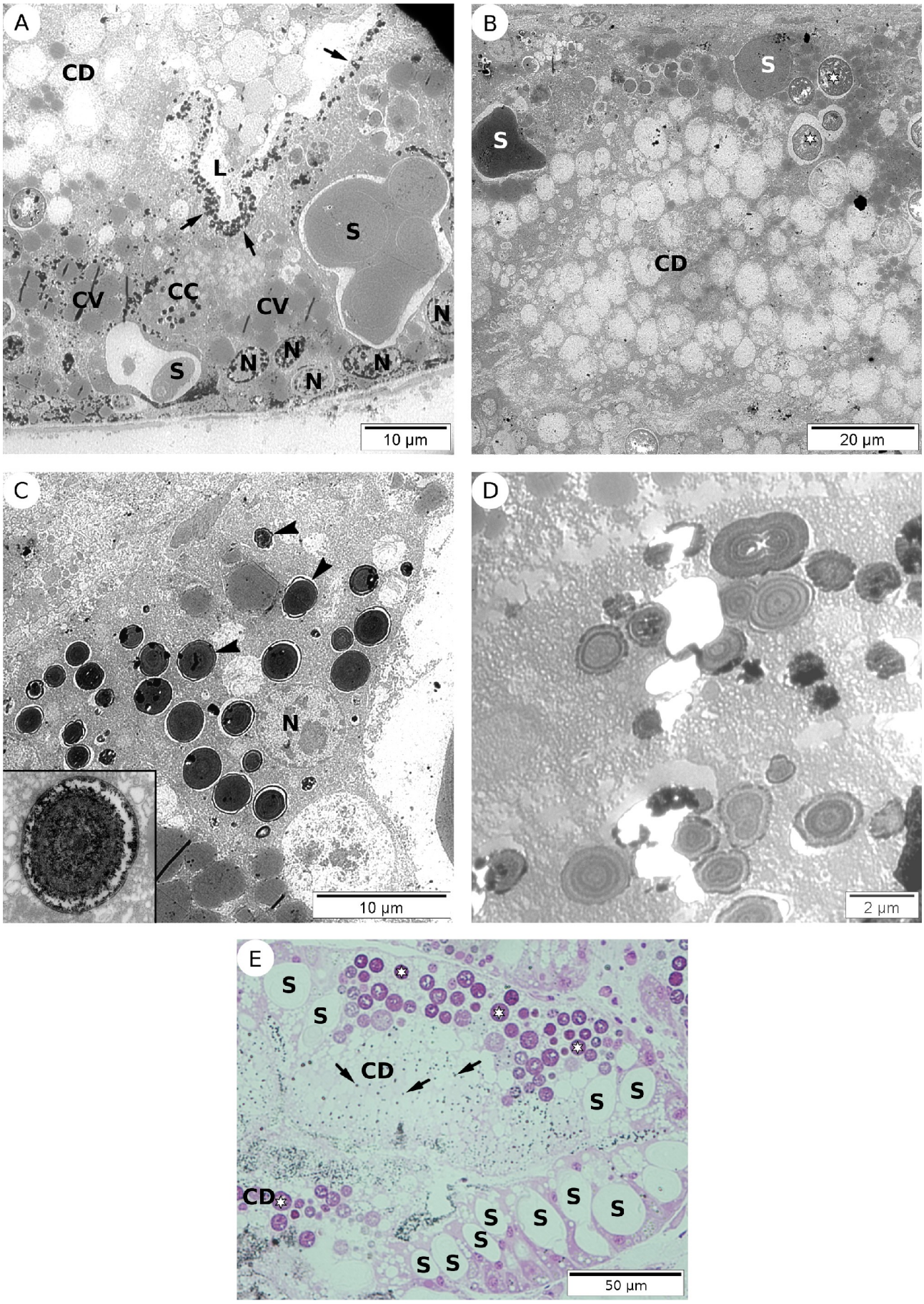

A
CD
L
S
CV
CC
CV
N
S
N
N
N
N
10 µm
B
S
S
CD
20 µm
C
N
10 µm
D
2 µm
E
S
S
CD
S
S
CD
S
S
S
S
S
S
S
50 µm

PLANCHE 33

Détection de l'activité phosphatase acide au M.E.T. dans la glande digestive du lot témoin de *Strombus pugilis*

A : Vue partielle d'un tubule digestif sur laquelle on peut voir les trois types cellulaires. Dans les cellule vacuolaires (**CV**), qui contiennent les symbiotes (**S**), on ne détecte aucun précipité. Dans les cellules cryptiques (**CC**), les sphérocristaux (**flèches**) présentent des précipités denses aux électrons caractéristiques de l'activité enzymatique phosphatase acide. Un groupe de cellules digestives (**CD**) est également visible. On y détecte une activité phosphatase acide notamment dans la partie apicale sous forme de petits précipités sphériques denses aux électrons (**têtes de flèche**).

B, C : Observations centrées sur les cellules digestives. Les précipités **(têtes de flèche)** traduisant l'activité phosphatase acide sont essentiellement localisés dans le tiers apical (**TA**) et au niveau des microvillosités (**mv**) du pôle apical. On observe également des précipités dans les grains bleus (**étoiles**) du tiers médian (**TM**). Le détail d'un de ces grains est donné dans l'encart de la **figure C**. Dans le tiers basal, on retrouve les gouttelettes lipidiques mais on ne détecte pas d'activité phosphatase acide particulière. De très petits précipités (0,1 à 0,5 µm) sont également présents de façon éparse dans le cytoplasme de l'ensemble des cellules digestives. Une activité phosphatase acide (**flèches**) a été détectée dans certains sphérocristaux des cellules cryptiques (**CC**). Les précipités forment généralement un anneau en périphérie du sphérocristal. **CV**, cellule vacuolaire ; **S**, symbiote.

D : Détail des cellules digestives. On y observe quelques grains bleus (**étoiles**) présentant plus ou moins de précipités mais la majorité de l'activité reste localisée dans le tiers apical (**TA**) des cellules digestives.

E : agrandissement des microvillosités du pôle apical d'une cellule digestive. Des précipités (**flèches**) sont détectés sous, et dans, les microvillosités. La **double flèche** indique la limite avec la cellule voisine. **L**, lumière.

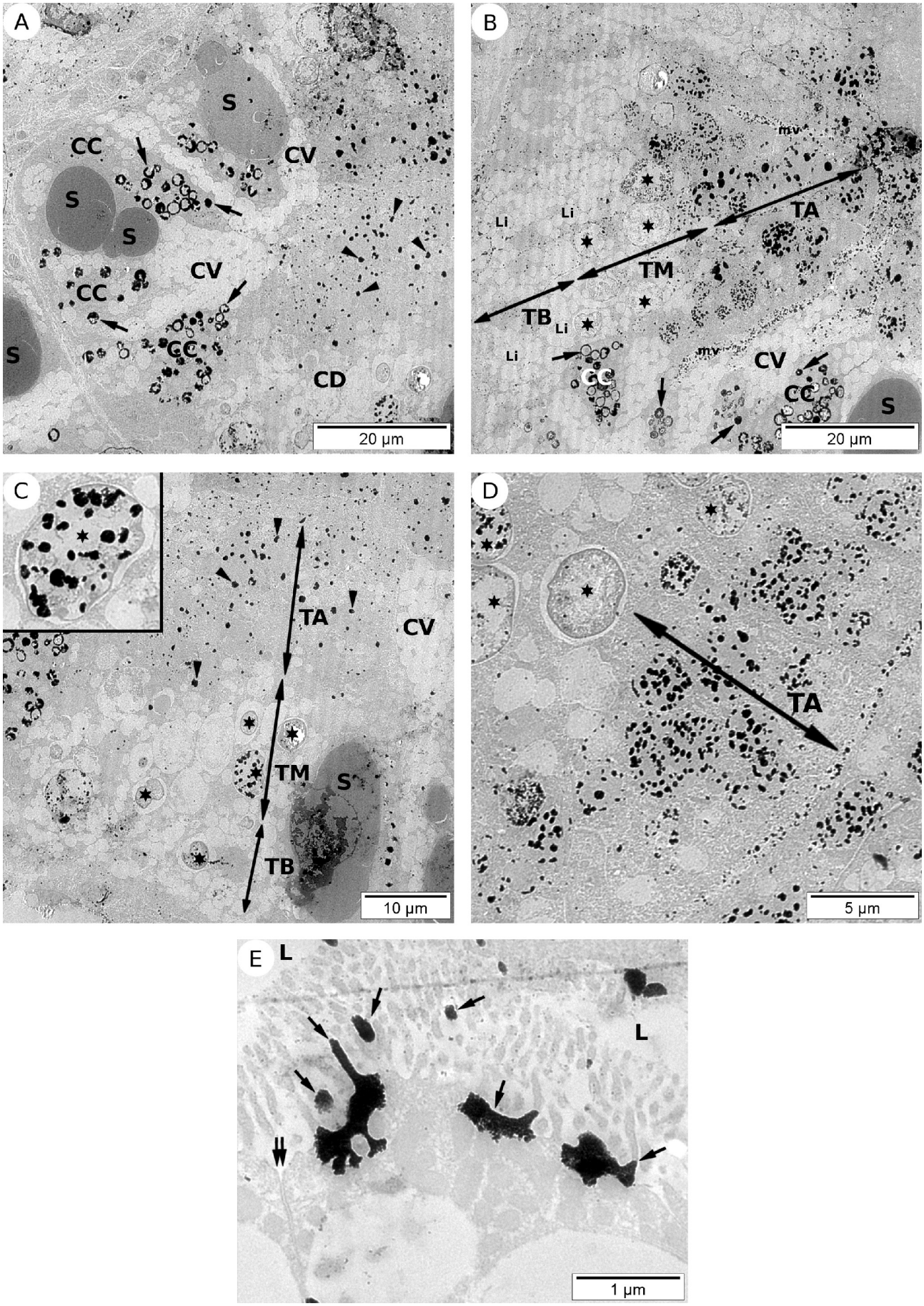

A
S
CC
CV
S
S
CV
CC
CC
S
CD
20 µm
B
mv
Li
Li
TA
TM
TB
Li
Li
mv
CV
CC
CC
S
20 µm
C
TA
CV
TM
S
TB
10 µm
D
TA
5 µm
E
L
L
1 µm

PLANCHE 34

Détection au M.E.T. des deux enzymes lysosomales étudiées chez les individus de *Srombus pugilis* en jeûne et nourris aux granulés d'élevage

---

A, B : Détection de la phosphatase acide dans la glande digestive des individus nourris 4 mois aux granulés d'élevage. **Figure A**, observation à faible grossissement. Les précipités (**flèches**) sont observés, comme pour les témoins (Pl. 33) dans le tiers apical des cellules digestives et au niveau des sphérocristaux (**têtes de flèche**) dans les cellules cryptiques (**CC**). **Figure B**, détail d'un des grains bleus des cellules digestives. On y observe des précipités identiques à ceux détectés dans les grains bleus des individus témoins (Pl. 33C, encart). **CD**, cellule digestive ; **CV**, cellule vacuolaire ; **L**, lumière.

C : Détection de la phosphatase acide dans la glande digestive des individus ayant jeûnés 5 mois. Aucun précipité n'a été détecté pour les individus de ce lot. Sur ce cliché, centré sur des cellules digestives (**CD**), on reconnaît les grains bleus (**étoiles**) dont certains sont de forme originale (**flèche**) mais aucun précipité traduisant l'activité de la phosphatase acide n'est visible.

D-F : Détection de l'arylsulfatase dans la glande digestive des trois lots de *S. pugilis*. **Figure D**, détection de l'arylsulfatase chez le lot témoin. L'activité (**flèches**) est essentiellement localisée dans le tiers apical (**TA**) des cellules digestives (**CD**) et dans les grains bleus (**étoiles**). Les deux autres types cellulaires ne présentent pas d'activité arylsulfatase. **Figure E**, détection de l'arylsulfatase chez les individus nourris 4 mois aux granulés d'élevage. Sur cette vue des cellules digestives, on observe des précipités localisés, comme pour le lot témoin, dans le tiers apical (**TA**). Cependant, les précipités ne sont pas contenus dans des vésicules sphériques aux contours nets, indiquant un phénomène de « fuite » lors de la préparation de l'échantillon. **Figure F**, détection de l'arylsulfatase chez le lot des individus ayant jeûnés 5 mois. Sur ce lot, nous n'avons pas rencontré de problèmes de « fuites ». Les précipités sont, là encore, localisés dans des vésicules du tiers apical des cellules digestives. **L**, lumière ; **mv**, microvillosités.

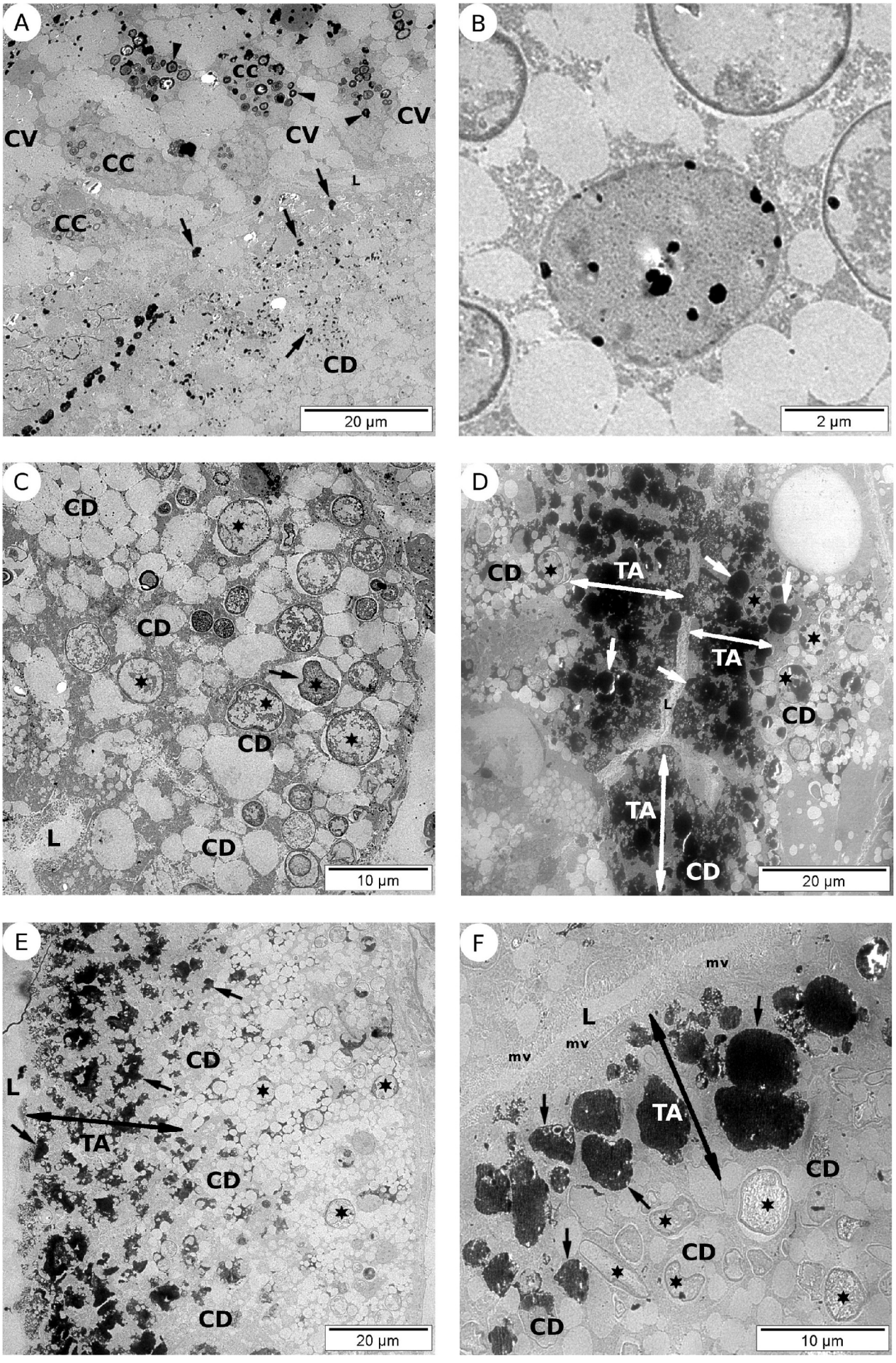

A
CC
CV
CV
CV
CC
L
CC
CD
20 µm
B
2 µm
C
CD
CD
CD
L
CD
10 µm
D
CD
TA
TA
L
CD
TA
CD
20 µm
E
CD
L
TA
CD
CD
20 µm
F
mv
L
mv
mv
TA
CD
CD
CD
10 µm

PLANCHE 35

Observation de la structure de la glande digestive sur coupes semi-fines de la glande digestive de *Strombus pugilis* des différents lots

---

A : Observation des cellules digestives du lot témoin. Les trois régions habituelles sont visibles : le tiers basal (**TB**), le tiers médian (**TM**) et le tiers apical (**TA**). Les cellules présentent une structure habituelle avec des gouttelettes lipidiques (**Li**) au pôle basal et des grains bleus (**étoiles**) dans le tiers médian. **L**, lumière ; **N**, noyau.

B : Observation des cellules digestives après 5 mois de jeûne. On n'observe ici que le tiers apical (**TA**) et le tiers médian (**TM**) mais l'absence du tiers basal est peut être due au plan de coupe. La quantité de grains bleus (**étoiles**) est remarquable. De plus, leur formes sont inhabituelles (**flèches**). Dans le tiers apical, on ne remarque pas de différence significative par rapport au témoin. **L**, lumière.

C, D : Observations des cellules digestives de *S. pugilis* après qu'ils aient été nourris pendant 4 mois à l'aide de granulés. À faible grossissement (**figure C**), on remarque que les tubules sont peu nombreux. Ils occupent moins d'espace que chez les témoins. Les tubules ne sont plus jointifs et le tissu conjonctif (**C**) occupe plus d'espace. Cette remarque mise à part, on n'observe pas de différence d'organisation de la glande digestive par rapport aux témoins. Les trois types cellulaires sont présents dans les proportions habituelles. À plus fort grossissement (**figure D**), les cellules digestives (**CD**) présentent une organisation similaire à celle des témoins. Les tiers basal (**TB**), médian (**TM**) et apical (**TA**) sont reconnaissables et les grains bleus (**étoiles**) sont de forme normale. **CV**, cellule vacuolaire. **CS**, canal secondaire.

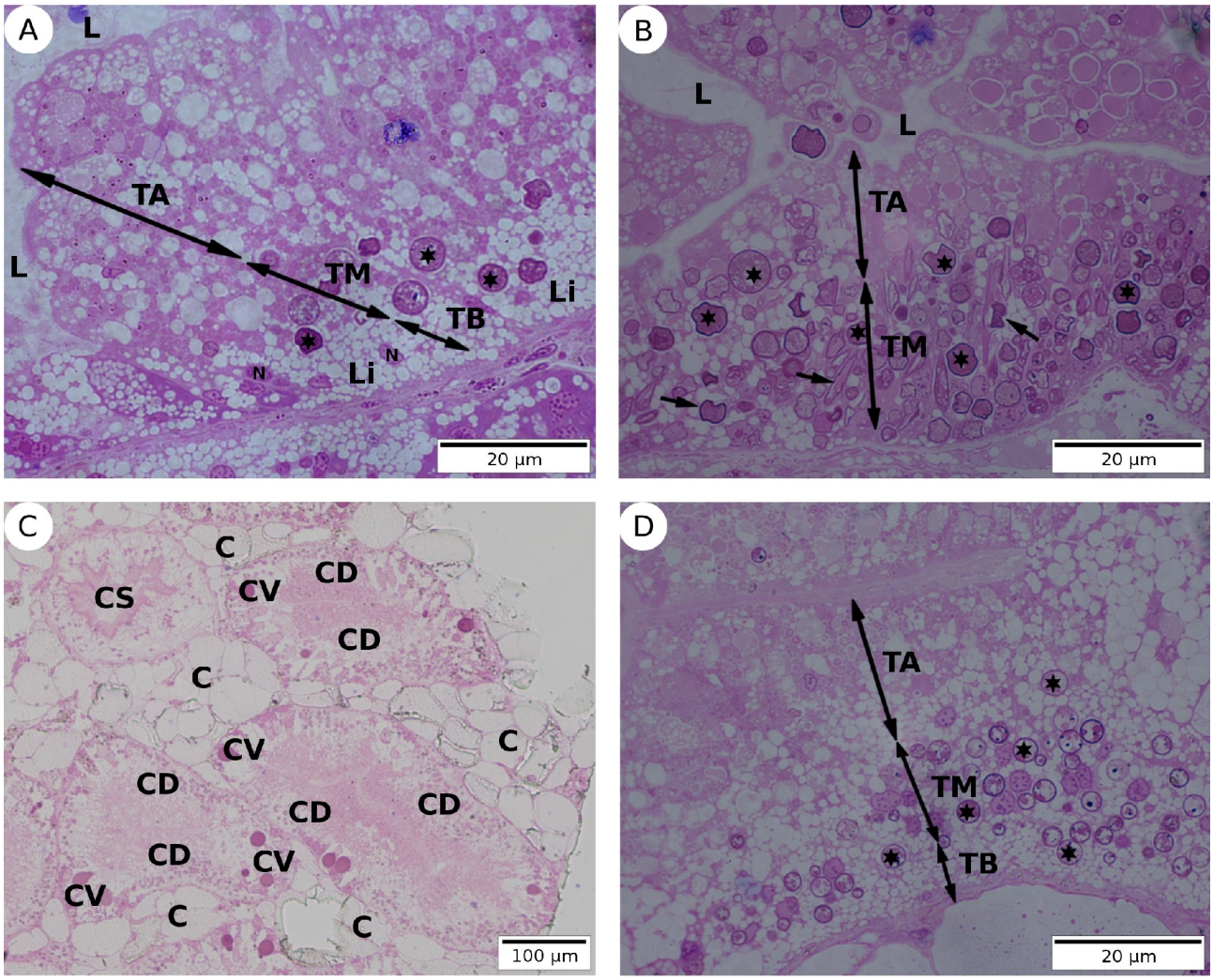

A
L
TA
L
TM
TB
Li
N
Li
N
20 µm
B
L
L
TA
TM
20 µm
C
C
CS
CV
CD
CD
C
CV
C
CD
CD
CD
CD
CV
CV
C
C
100 µm
D
TA
TM
TB
20 µm

PLANCHE 36

Détection histochimique des lipides dans la glande digestive des Strombidae

---

A, B : Coupes à congélation de la glande digestive de *S. gigas* colorées au bleu B.Z.L. **Figure A**, sur cette vue d'ensemble, on observe plusieurs tubules (**T**) connectés à un canal secondaire (**CS**). Le bleu B.Z.L., colorant des lipides, se retrouve de façon hétérogène sur le champ d'observation. **Figure B**, sur cette vue à plus fort grossissement on observe un unique tubule digestif. Quatre blocs de cellules digestives (**CD**) sont présents et, entre eux, on retrouve des groupes de cellules vacuolaires (**CV**) avec leurs symbiotes (**S**). La coloration bleu, spécifique des lipides, se retrouve essentiellement dans le tiers basal (**TB**) et de façon moins prononcée dans le tiers médian (**TM**). Le tiers apical (**TA**) ne présente, quant à lui, aucune coloration. Une légère coloration est également détectée dans les cellules vacuolaires. **L**, lumière.

C : Coupe à congélation de la glande digestive de *S. gigas* colorée au noir soudan B. Avec ce deuxième colorant des lipides, on retrouve la coloration prononcée dans le tiers basal (**TB**) des cellules digestives (**CD**) ainsi qu'une légère coloration dans le tiers médian (**TM**) et le tiers apical (**TA**) n'est toujours pas coloré. Les lipides des cellules vacuolaires (**CV**) sont clairement mis en évidence par le noir soudan B (**encart**). Les gouttelettes lipidiques, conservées lors de la préparation des échantillons pour la coupe à congélation, apparaissent sous forme de petites sphères bleues. **S**, symbiote.

D : Coupe histologique de la glande digestive de *S. pugilis* après post-chromisation des lipides par le protocole de Ciaccio et inclusion en paraffine. La coupe est colorée par le noir soudan B. Cette observation est centrée sur un tubule digestif. On voit que les lipides des cellules digestives (**CD**) ne sont plus marqués, en revanche, ceux des cellules vacuolaires sont toujours détectés (**flèches**). Ces derniers sont conservés par le protocole de Ciaccio qui ne préserve que les phospho- et sphingo-lipides. **L**, lumière ; **S**, symbiote.

E : Coupe à congélation de la glande digestive de *S. gigas* colorée au noir soudan B. On voit, ici, l'épithélium en « dents de scie » d'un canal secondaire de la glande. Des lipides (**flèches**) sont mis en évidence par le noir soudan B dans le pôle apical des cellules épithéliales. **L**, lumière.

F : Observation des cellules épithéliales d'un canal secondaire après le protocole de Ciaccio. Sur cet autre type de cellules épithéliales de canal secondaire (**CS**), on retrouve également des lipides mis en évidence par le noir soudan B (**flèches**). Ceux-ci étant conservés par la post-chromisation de Ciaccio, il s'agit, soit de phospho-, soit de sphingo-lipides. **CV**, cellule vacuolaire.

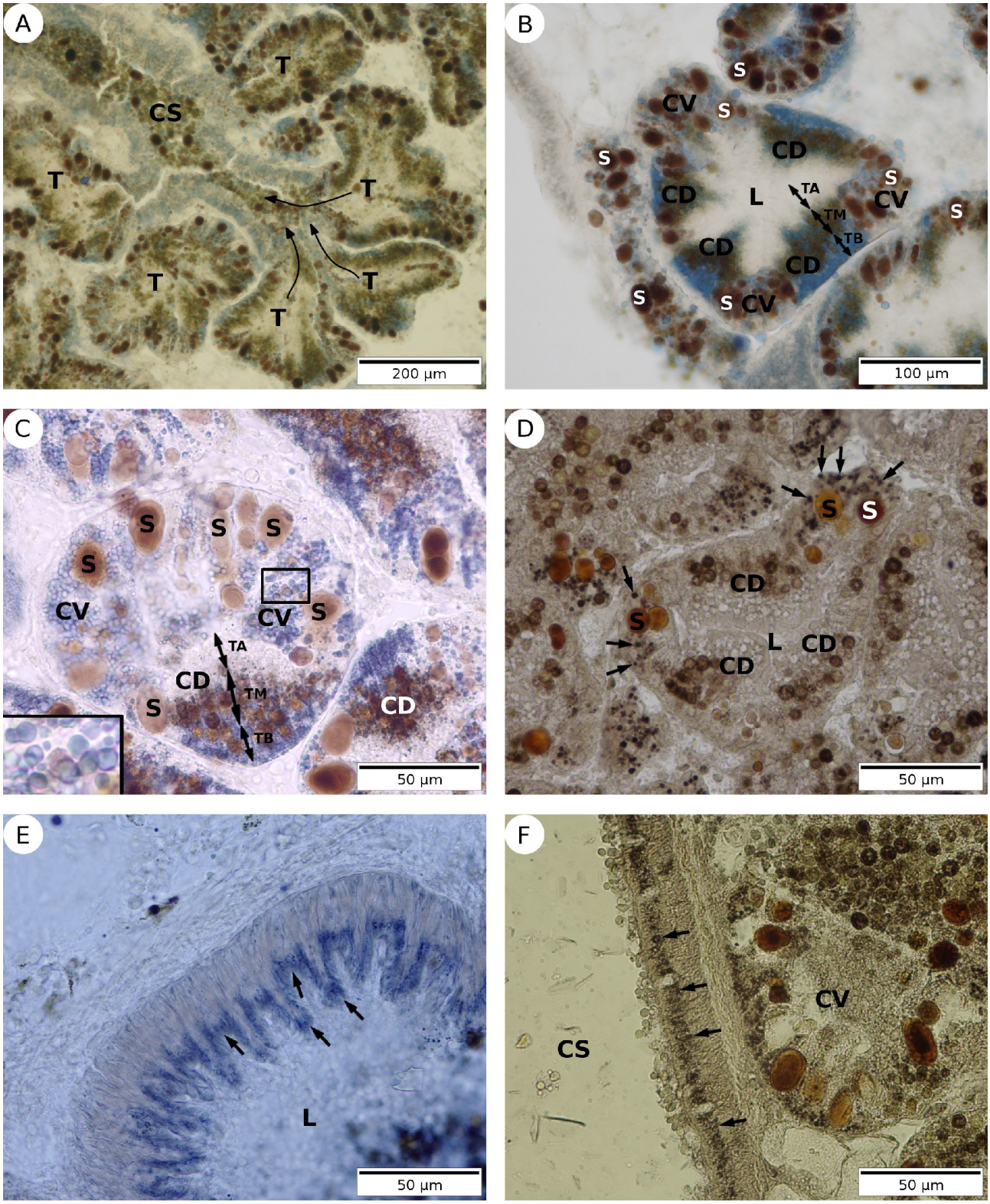

A
T
CS
T
T
T
T
T
200 µm
B
S
CV
S
CD
S
CD
L
TA
S
CV
TM
S
TB
CD
CD
S
S CV
100 µm
C
S
S
S
S
CV
CV
S
TA
CD
TM
S
TB
CD
50 µm
D
S
S
CD
S
L
CD
CD
50 µm
E
L
50 µm
F
CV
CS
50 µm

PLANCHE 37

Spectres obtenus par l'analyse E.D.X. des sphérocristaux de la glande digestive des Strombidae

---

En face de chaque cliché réalisé au M.E.B. est présenté le spectre de l'analyse E.D.X. réalisé sur un des sphérocristaux (**flèches**) du champ d'observation. L'analyse est réalisée avec une inclinaison de l'échantillon de 30° et le temps d'acquisition est de 100 secondes. Un seul spectre est représenté ici, mais plusieurs analyses ont été réalisées sur différents sphérocristaux dans différentes cellules cryptiques. Les éléments Al, Ca, Fe, Mg, P et Zn ont été détectés lors des analyses. Le phosphore est le seul élément que l'on retrouve systématiquement quelque soit l'espèce et quelque soit le sphérocristal analysé. Les éléments Ca, P et Zn ont été retrouvé dans au moins un sphérocristal chez les cinq espèces analysés. **S**, symbiote.

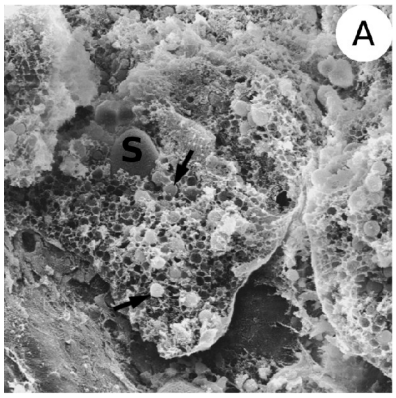
A, B : *Strombus costatus*

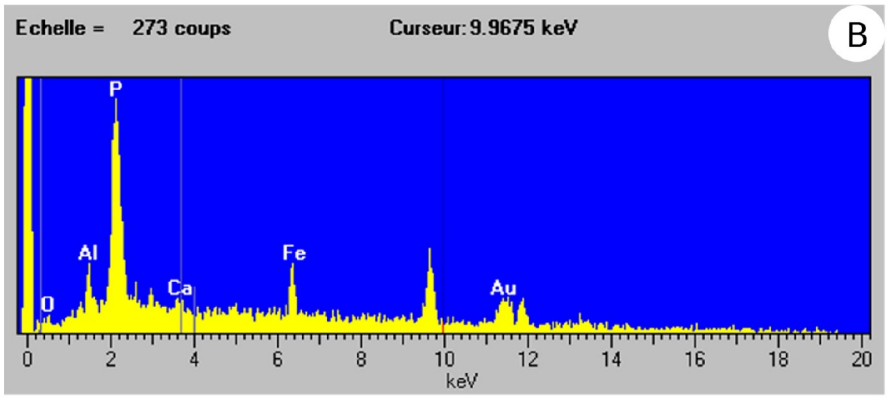
C, D : *Strombus gallus*

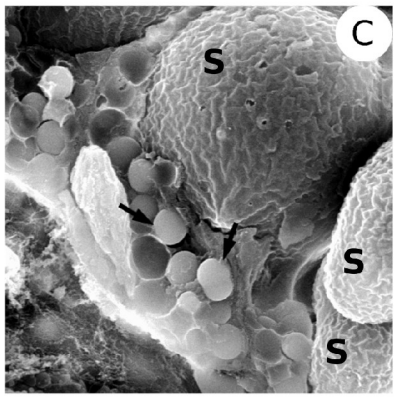
E, F : *Strombus gigas*

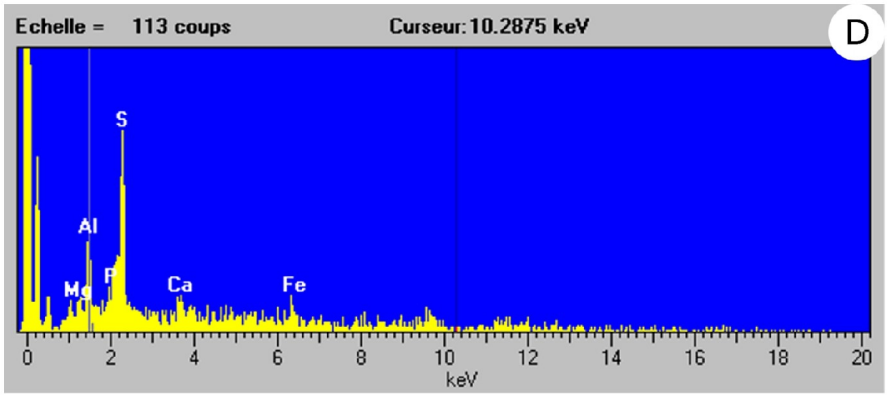
G, H : *Strombus pugilis*

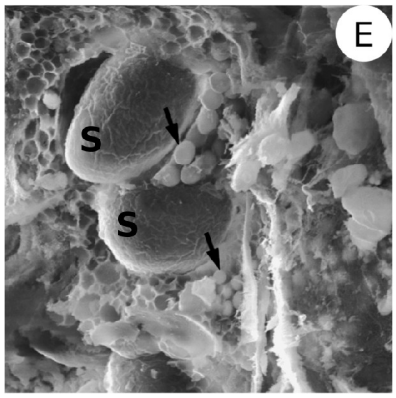
I, J : *Strombus raninus*

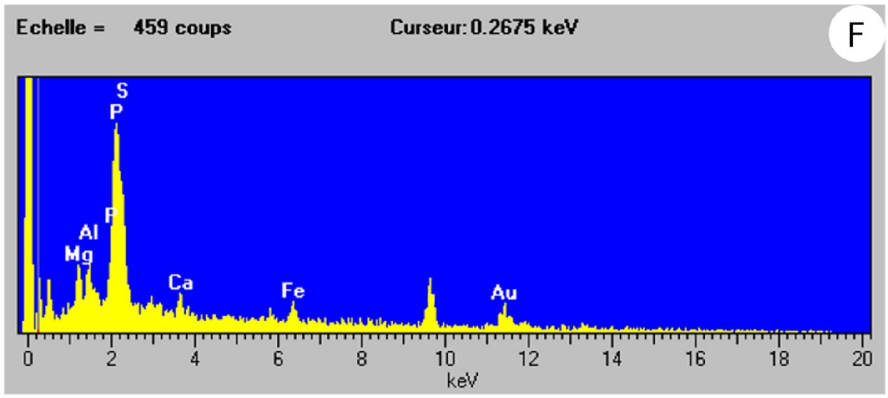

A
S

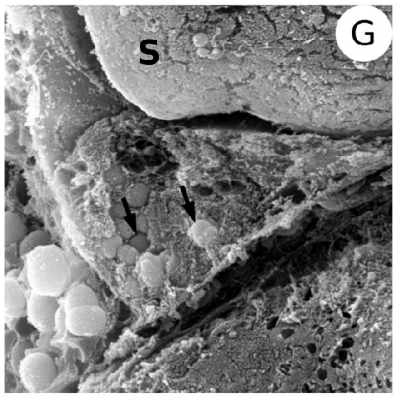

Echelle = 273 coups
Curseur: 9.9675 keV
B
P
Al
O
Ca
Fe
Au
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
keV

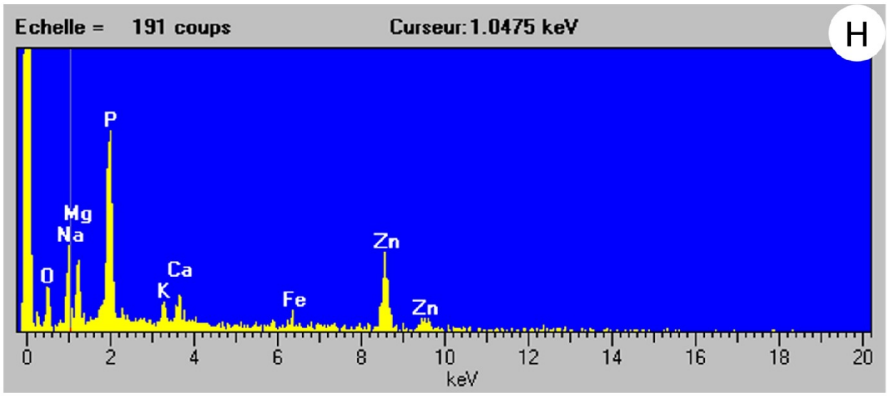

C
S
S
S

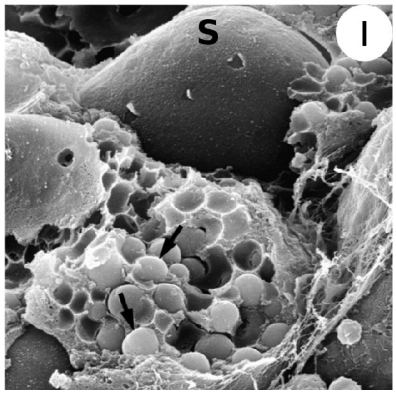

Echelle = 113 coups
Curseur: 10.2875 keV
D
S
Al
Mg
P
Ca
Fe
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
keV


E
S
S


Echelle = 459 coups
Curseur: 0.2675 keV
F
S
P
Al
P
Mg
Ca
Fe
Au
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
keV


G
S


Echelle = 191 coups
Curseur: 1.0475 keV
H
P
Mg
Na
O
Ca
K
Fe
Zn
Zn
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
keV


I
S

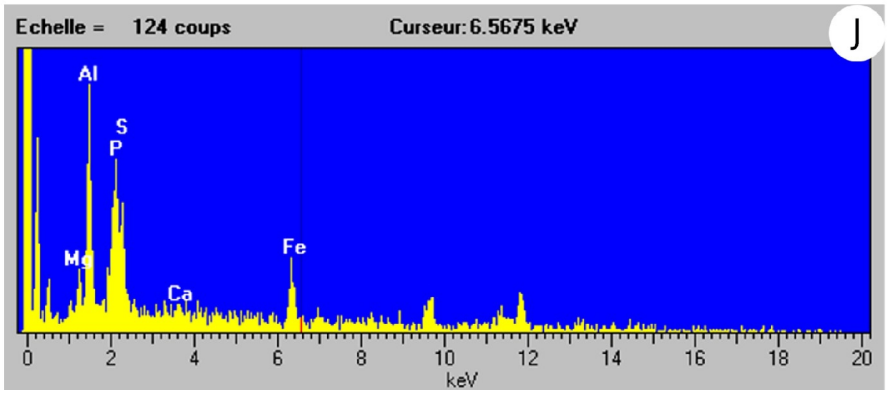
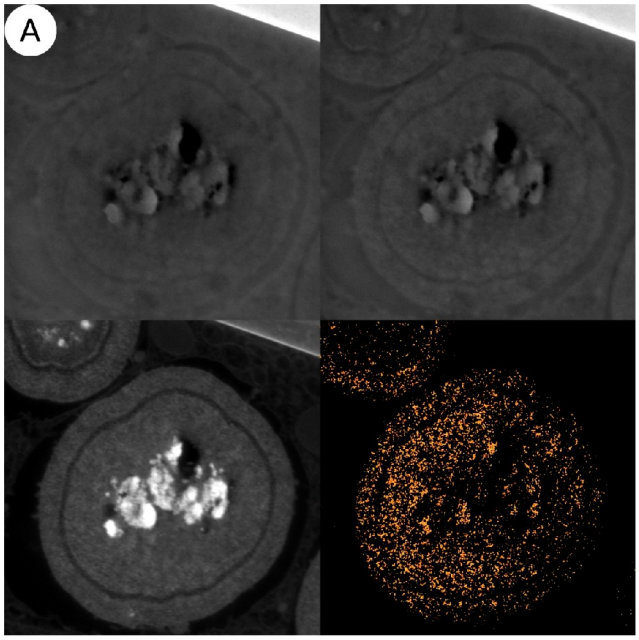

Echelle = 124 coups
Curseur: 6.5675 keV
J
Al
S
P
Mg
Fe
Ca
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
keV

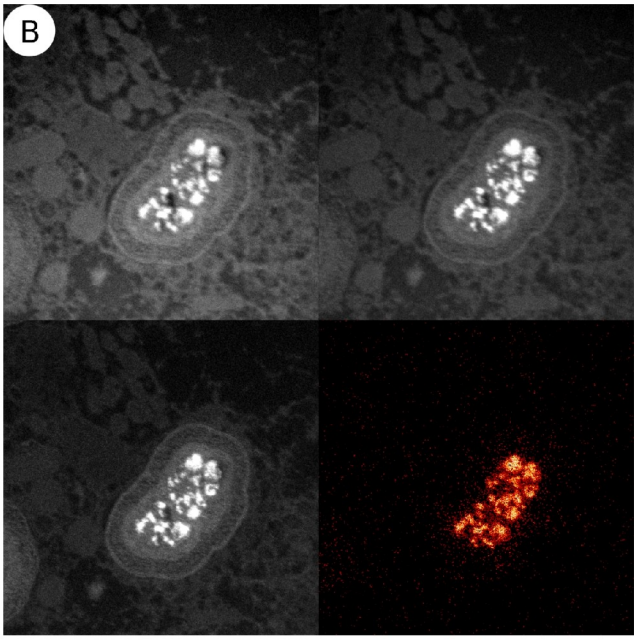
PLANCHE 38

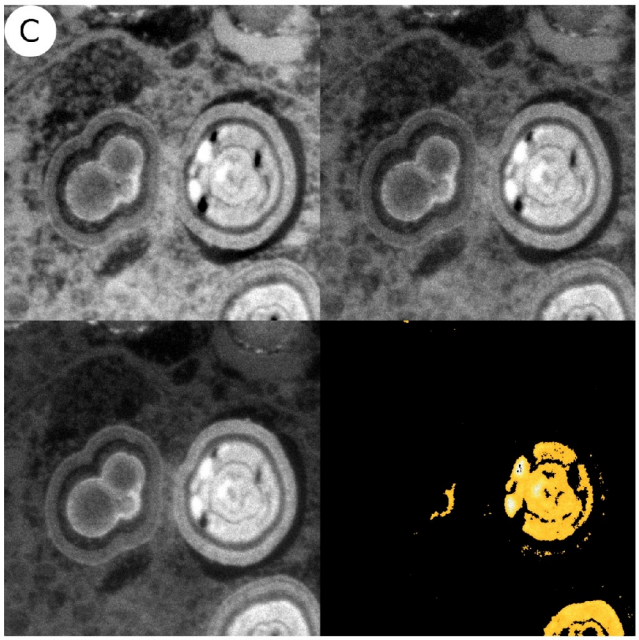
Détection par E.F.T.E.M. des éléments Ca, Fe, Al et Mg dans les sphérocristaux de *Strombus gigas*

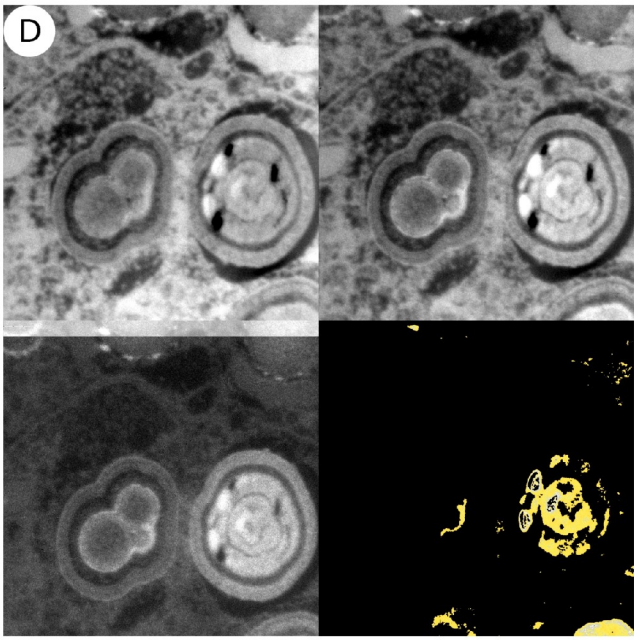
A-D : Localisation des éléments Ca (**figure A**), Fe (**figure B**), Al (**figure C**) et Mg (**figure D**) dans les sphérocristaux de *S. gigas*. La méthode d'acquisition utilisée est celle des trois fenêtres. Pour chaque figure, quatre images sont présentées. Celle en haut à droite correspond à l'image au maximum d'énergie de l'élément analysé et celle en haut à gauche correspond à une des deux images avant le pic de l'élément. En bas à gauche se trouve l'image au plus fort contraste (H.C.I.) et en bas à droite est représenté la localisation de l'élément considéré après soustraction (selon la loi d'Egerton) par des pixels de couleur. Les éléments sont localisés, soit de façon homogène dans l'ensemble du sphérocristal, soit dans une ou plusieurs des couches qui le compose. La cartographie des éléments nous a également permis de mettre en évidence la présence de certains éléments dans le cœur même des sphérocristaux (**figures B-D**).

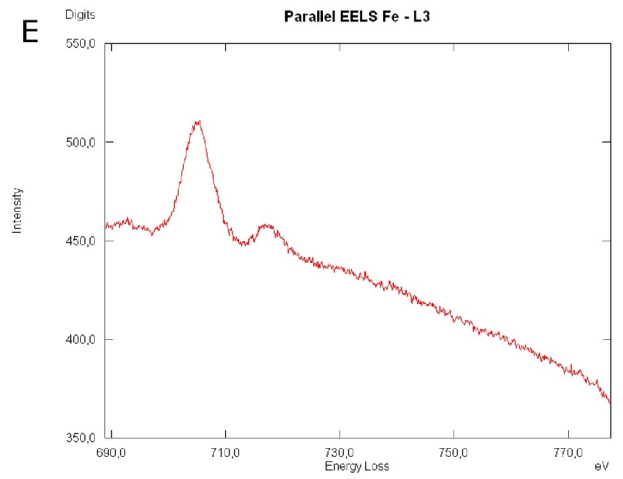
E, F : Spectres obtenus après soustraction du bruit de fond pour les éléments Fe (**figure E**) et Ca (**figure F**). Dans les deux cas, le spectre obtenu est le spectre caractéristique de l'élément.


A


B


C


D


E
Digits
Parallel EELS Fe - L3
550,0
500,0
450,0
400,0
350,0
Intensity
690,0
710,0
730,0
750,0
770,0
Energy Loss
eV

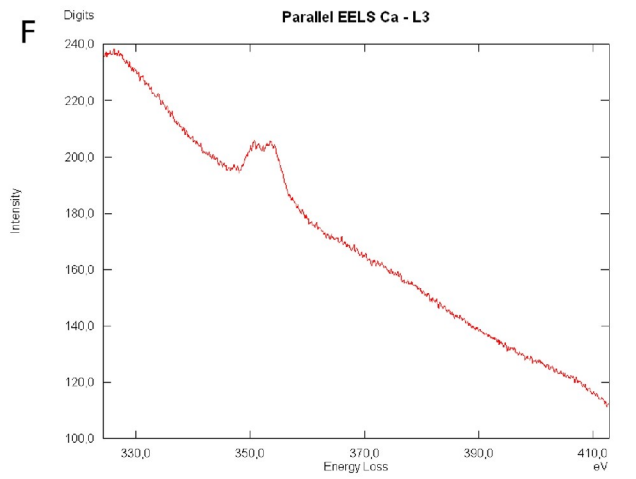

F
Digits
Parallel EELS Ca - L3
240,0
220,0
200,0
180,0
160,0
140,0
120,0
100,0
Intensity
330,0
350,0
370,0
390,0
410,0
Energy Loss
eV

PLANCHE 39

Coupes semi-fines présentant la structure de la glande digestive de *Strombus pugilis* en fonction de la contamination au cadmium et au plomb

---

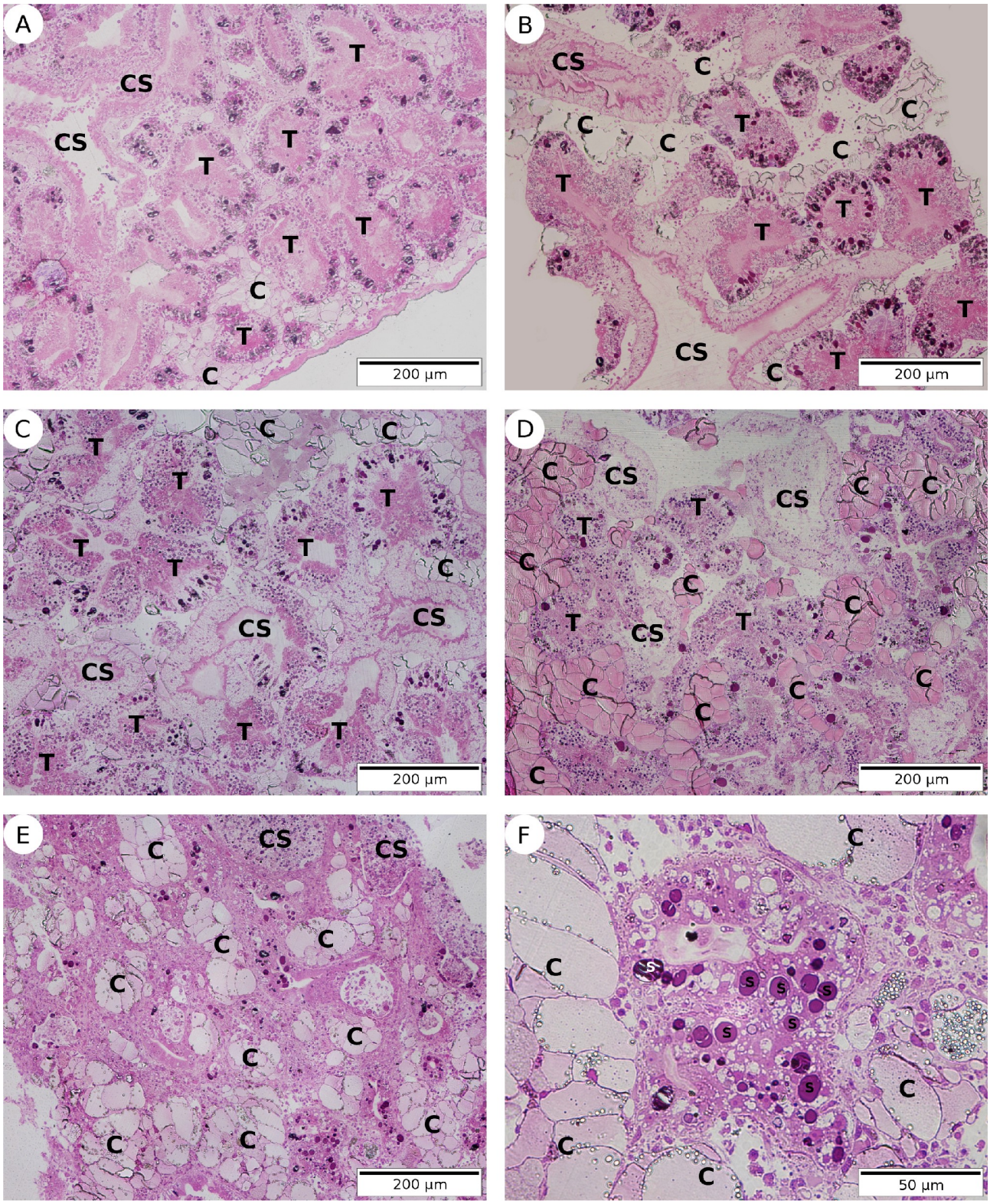
A : Observation de la structure de la glande d'un individu témoin non contaminé. Les tubules digestifs (**T**) sont nombreux et occupent presque tout l'espace. Ils sont jointifs et le tissu conjonctif (**C**) n'est visible qu'à la périphérie de l'organe. Des canaux secondaires (**CS**) sont également visibles.

B : Structure de la glande digestive après 50 jours de nourrissage aux granulés contaminés par le cadmium et le plomb. Les tubules (**T**) sont toujours visibles et bien formés mais ils ne sont plus jointifs et sont moins nombreux. Ils occupent moins d'espace dans la glande au profit du tissu conjonctif (**C**). **CS**, canal secondaire.

C : Structure de la glande digestive après une contamination au chlorure de cadmium à 0,1 $mg.l^{-1}$ directement dans l'eau d'élevage. La structure est sensiblement la même que celle des témoins. **C**, tissu conjonctif ; **CS**, canal secondaire ; **T**, tubule digestif.

D : Structure de la glande digestive après une contamination au chlorure de cadmium à 0,5 $mg.l^{-1}$ directement dans l'eau d'élevage. À cette concentration, la glande commence à subir une modification sévère de sa structure. On reconnaît toujours les canaux secondaires (**CS**) ainsi que la majorité des tubules digestifs (**T**) mais ils ne sont pas aussi structurés que ceux des témoins. Le nombre de tubule a diminué de façon significative et le tissus conjonctif (**C**) occupe plus d'espace.

E, F : Structure de la glande digestive après une contamination au chlorure de cadmium à 1 $mg.l^{-1}$ directement dans l'eau d'élevage. À cette concentration, la glande digestive est complètement déstructurée. On ne reconnaît presque aucune structure habituelle. Seuls quelques canaux secondaires (**CS**) semblent persister. Le tissu conjonctif (**C**) occupe la majorité de l'espace. À plus fort grossissement (**Figure F**) on reconnaît les symbiotes (**S**) qui sont parmi des amas cellulaires non organisés en épithélium.


A
CS
CS
T
T
T
T
T
C
T
C
200 µm
B
CS
C
C
C
C
T
T
T
T
T
T
CS
C
T
T
200 µm
C
T
T
T
T
T
C
CS
CS
CS
T
T
T
T
C
C
C
200 µm
D
C
CS
T
CS
C
C
T
C
C
T
CS
T
C
C
C
C
C
C
200 µm
E
C
CS
CS
C
C
C
C
C
C
C
C
C
200 µm
F
C
C
S
S
S
S
S
S
S
C
C
C
50 µm

INTERACTION DURABLE STROMBIDAE – SPOROZOAIRES ET FONCTIONNEMENT DE L'ORGANE HÔTE DE LA RELATION : LA GLANDE DIGESTIVE

Le lambi *Strombus gigas* (Strombidae) est une espèce de Mollusque Gastéropode particulièrement importante dans toute la région Caraïbe. En 2007, il a été rapporté la présence de structures étrangères en grand nombre dans les cellules de la glande digestive des animaux analysés. Ces structures, apparemment des protistes, sont alors décrites comme des parasites appartenant au groupe des Apicomplexa (Sporozoaires). Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous proposons de poser les bases de l'étude d'une thématique nouvelle : l'association Strombidae-Sporozoaires.

Dans un premier temps, une analyse structurale et ultrastructurale de la glande digestive et de ses micro-organismes associés a été réalisée sur neuf espèces de Gastéropodes. Il ressort de ces analyses que les Sporozoaires sont des endosymbiotes intracellulaires présentant une prévalence de 100 % dans toutes les espèces analysées. Ils sont très largement répartis et la transmission se fait verticalement. Rien ne semble indiquer qu'ils soient virulents. Nous souhaitons donc proposer qu'ils entretiennent, avec leurs hôtes, une relation peu, voire pas virulente de type commensalisme ou mutualisme.

Dans un deuxième temps, la glande digestive a été étudiée d'un point vue structural et fonctionnel. Nous nous sommes intéressés aux fonctions associées aux trois types cellulaires rencontrés dans les tubules digestifs de la glande : les cellules digestives, les cellules vacuolaires et les cellules cryptiques. La digestion intracellulaire a été mise en évidence par une analyse cytochimique dans les cellules digestives. Les cellules vacuolaires, qui hébergent les symbiotes, sont dédiées au stockage de lipides. Enfin, l'osmorégulation de certains minéraux, ainsi que la détoxification de certains métaux essentiels sont des fonctions attribuées aux sphérocristaux rencontrés dans les cellules cryptiques.

Mots clés : Ampullariidae, Apicomplexa, détoxification, histologie, physiologie, sphérocrisrtal structure, symbiose.

STROMBIDAE-SPOROZOAN RELATIONSHIP AND FUNCTIONNING OF THE HOST ORGAN : THE DIGESTIVE GLAND

The Queen Conch, *Strombus gigas* (Strombidae) is a Gastropod Mollusc particularly important in the Caribbean. In 2007, a huge number of foreigner structures have been detected in the digestive gland cells. These structures have been defined as parasites belonging to the Apicomplexa (Sporozoa) group. Thus, this thesis proposes a new research topic: the Strombidae-Sporozoan relationship.

First, a structural and ultrastructural analysis of the digestive gland and its symbionts was performed on nine Gastropods species. These analyses revealed that Sporozoan are intracellular endosymbionts with a 100 % prevalence in every species analyzed. Symbionts are widely distributed and vertically transmitted. No evidences have been found suggesting that they are virulent. Accordingly, we propose that they are involved in a weakly, or not, virulent relationship such as commensalism or mutualism.

Secondly, functional and structural studies of the digestive gland have been done. We have focused on functions associated to the three cell types which compose the digestive tubules of the gland: the digestive cells, the vacuolated cells and the cryptic cells. Intracellular digestion has been highlighted by cytochemistry in digestive cells. Vacuolated cells harbor symbionts and store lipid reserves. Mineral osmoregulation and detoxification of trace elements seems to be mostly attributed to spherocristals in crypt cells.

Key words: Ampullariidae, Apicomplexa, detoxification, histology, physiology, spherocrystal, structure, symbiosis.