

ACTIVITÉ AMYLASIQUE CHEZ RAPANA THOMASIANA GROSSE**Rosoiu S. Natalia**

Institut Roumain de Recherches Marines Constanța

ABSTRACT:

The amylasic activity in hepatopancreas, stomach, salivary gland, mantle, foot and whole body of Rapana thomasiana Grosse, was tested. The amylase extracted from hepatopancreas was optimal pH of action at 6,2 and 7,8 and the optimal temperature at 30°C.

On a étudié l'activité amylasique - pour la mer Noire - surtout chez la moule. IORDACHESCU et coll. (3) ont établi les paramètres optimums d'extraction de l'amylase du hépatopancréas de Mytilus galloprovincialis, et GOROMOSOVA, SHAPIRO (2) et ROSOIU (7) étudient, chez la même espèce, l'activité amylasique dans le tissu musculaire et dans le hépatopancréas étroitement liée au cycle sexuel de la moule.

Jusqu'à présent nous n'avons pas trouvé de données concernant l'amylase de Rapana thomasiana. Dans le présent ouvrage on présente la distribution par organes de l'activité amylasique chez Rapana thomasiana Grosse ainsi que quelques paramètres d'action de l'amylase extraite du hépatopancréas.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

On a collecté les exemplaires de Rapana par plongée profonde dans les zones pierreuses du sud de Constanța, à la profondeur de 3 m, dans la période avril-juin 1976. Les déterminations furent effectuées sur hépatopancreas, glandes salivaires, estomac, pied, manteau et corps entier.

On a réalisé l'extrait protéique total en homogénéisant l'organe pris en étude, obtenu de tout au moins cinq exemplaires, par rapport à 1 g tissu pour 20 ml eau distillée.

Le dosage de l'activité enzymatique fut effectué par la méthode de METAIS et BLETH (6). Le milieu de réaction contient 1,6 mg amidon soluble préparé en tampon acétate solution $5 \times 10^{-3} M$, pH 6,2 ou tampon phosphate 0,2 M, pH 7,8 et tout au plus 0,1320 mg de protéine extraite. La réaction est conduite à 37°C pendant 30 minutes et on l'arrête avec 5 ml CH_3COOH 6%. On a réalisé la photocolorimétrie à 530 nm, après réaction à iode, solution N/1.500.

On a calculé l'activité enzymatique de la relation:

$$U/ml = \left[(D.O. \text{ contrôle} - D.O. \text{ échantillon}) : D.O. \text{ contrôle} \right] \times 1,6 \times f$$

- cu: - U/ml = unités amylase par 1 ml extrait protéique;
- D.O. = densité optique de l'échantillon où a eu lieu la réaction enzymatique, et celle du contrôle, où le mélange de réaction n'était pas incubé à 37°C, pendant 30 minutes;
 - 1,6 = représente les mg amidon de l'échantillon;
 - f = représente le facteur de dilution de l'extrait protéique total.

On définit une unité amylasique par 1 ml extrait protéique (U/ml) par le nombre de mg amidon hydrolysées pendant 30 minutes à 37°C. Les données obtenues s'exprimaient en mU/ml/min et en mU/mg protéine/min.

La concentration protéique fut déterminée par la méthode de LOWRY (5).

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

En testant l'activité amylasique en différentes organes de Rapana, on observe que cette enzyme est présente surtout dans les organes digestifs (glandes salivaires, estomac et hépatopan-

créas). Au mois de juin on a décelé une faible activité amylolytique même dans les organes non digestifs; dans le manteau: 6,00 mU/ml/min et 4,48 mU/mg/min; dans le pied: 98,00 mU/ml/min et 22,18 mU/mg/min (Tab.1). La présence de l'amylase dans ces organes non digestifs montre le rôle complémentaire de cette enzyme à la rapide mobilisation des réserves de glucides en certains états physiologiques de Rapana.

De toutes les organes testés, on a décelé au hépatopan-créas la plus grande activité amyliasique par ml extrait protéique (256,60 - 586,60 mU/ml/min) et activité amyliasique spécifique (48,60 - 126,28 mU/mg/min).

Dans le corps entier, l'activité amyliasique par ml extrait protéique a des valeurs entre 26,60 et 143,00 mU/ml/min et une activité amyliasique spécifique de 13,00 - 70,44 mU/mg/min (Tab.1).

Tableau 1

Quelques valeurs mensuelles de l'activité amyliasique en différentes organes, chez Rapana thomasi

Organes	Mois	Protéine		
		mg/ml	mU/ml/min	mU/mg/min
Corps	avril	-	-	-
	mai	2,05	26,60	13,00
	juin	2,03	143,00	70,44
Manteau	avril	1,10	0,00	0,00
	mai	0,60	0,00	0,00
	juin	1,34	6,00	4,48
Pied	avril	-	-	-
	mai	4,76	0,00	0,00
	juin	4,42	98,00	22,18
Glandes salivaires	avril	-	-	-
	mai	12,08	29,40	2,44
	juin	17,91	225,00	12,56
Estomac	avril	-	-	-
	mai	0,89	5,40	6,06
	juin	1,66	22,40	13,50
Hépatopan-créas	avril	5,28	256,60	48,60
	mai	5,48	586,60	107,04
	juin	4,01	506,40	126,28

Observation: l'activité amylolytique fut déterminée à un pH de 6,2 et à une température de 37°C. Les valeurs y inscrites représentent la moyenne de cinq déterminations.

De façon ressemblante, ALEMANY et ROSELL-PÉREZ (1) ont mis en évidence chez Mytilus edulis une intense activité amyli- que les organes digestifs et dans les structures apparentées, et aussi dans les stades anoxiques du cycle physiologique et dans les organes non-digestives, comme les gonades et le tissu musculaire.

En vue de déterminer le pH optimum d'action de l'amylase extraite du hépatopancréas, on a étudié l'activité enzymatique dans le domaine de pH situé entre 3 et 8. Les données obtenues attestent que l'extrait protéique total présente une activité amyli- que pour l'entier intervalle étudié du pH, ayant les maxi- mums au pH 6,2 et 7,8. A un pH de 6,2 l'amylase a la plus grande activité catalytique (Fig.1).

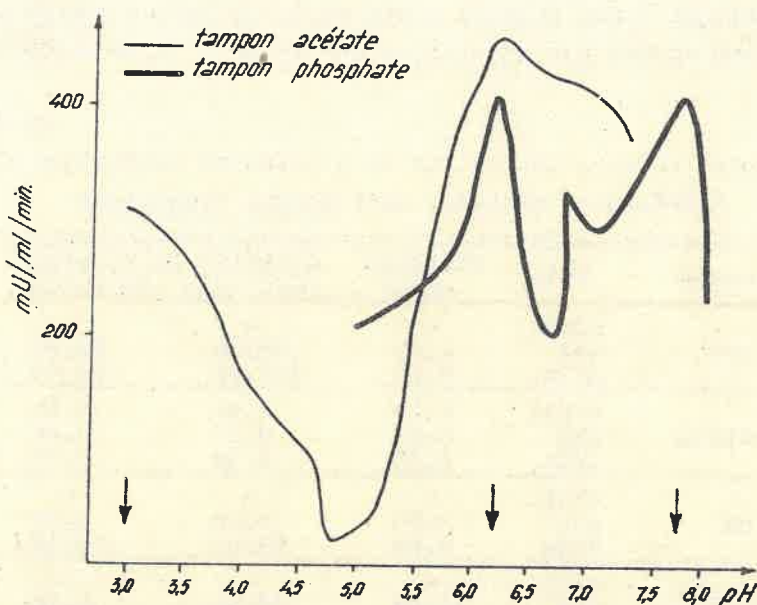


Fig.1 - Influence du pH sur la vitesse de réaction enzymatique, catalysée par l'amylase extraite du hépatopancréas de Rapana thomasi.

On a décelé aussi des activités amylolytiques en domaines de pH acide et neutre chez la moule (1; 3; 4).

On constate qu'à un pH de 6,2 ainsi qu'à celui de 7,8 l'amylase du hépatopancréas a la même température optimal d'acti-

tivité - 30°C -, et les curves qui illustrent la variation de l'activité enzymatique fonction de température pour les deux pH ont un aspect semblant (Fig.2). Pour le pH 6,2 , l'amylase a un degré plus élevé de thermostabilité.

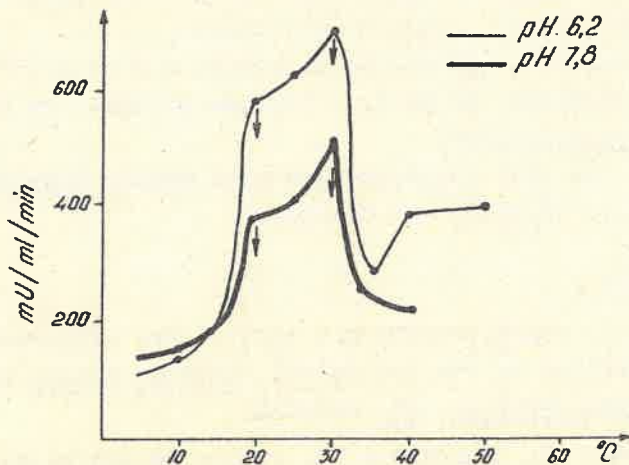


Fig.2 - Influence de la température sur la vitesse de réaction enzymatique, catalysée par l'amylase extraite du hépatopancréas de Rapana thomasiana.

En base de la méthode de dosage de l'activité enzymatique utilisée - le dosage de l'amidon reste non-hydrolysé après l'action de l'amylase - il est très difficile d'établir le type d'amylase présent chez Rapana thomasiana. Pourtant, si l'on tient compte que les produits de hydrolyse de l'amidon donnent avec l'iode des complexes de couleur rose-violet et non bleu (couleur du complexe amidon-iode), c'est un indice que ces produits de hydrolyse enzymatique sont du type des dextrans, donc nous estimons que chez Rapana l'activité amylolytique est du type α .

CONCLUSIONS

1. Chez Rapana thomasiana, l'amylase est présente toujours et a une activité catalytique plus grande dans les organes digestifs (glandes salivaires, estomac et hépatopancréas), en décelant quelquefois une faible activité amylolytique même dans les

organes non-digestifs (manteau et pied).

L'organe qui concentre l'amylase est le hépatopancréas.

2. L'enzyme extraite du hépatopancréas présente une activité amylasique dans l'entier intervalle étudié (entre 3,0 et 8,0), ayant des valeurs maxima à pH 6,2 et 7,8. Au pH de 6,2 l'amylase a la plus grande capacité catalytique.

L'activité maximum de l'amylase a lieu à 30°C, aux deux pH optimaux décelés. Au pH 6,2 l'enzyme présente un plus grand degré de thermostabilité.

3. On peut apprécier que chez Rapana thomasiana l'activité amylasique décelée est du type α .

BIBLIOGRAPHIE:

1. ALLEMANY M., ROSELL-PÉREZ M., 1973 - Two different amylase Activities in the Sea Mussel, Mytilus edulis L, Rev. Espan. Fiziol., 29: 217-222.
2. GOROMOSOVA S.A., SHAPIRO A.Z., 1970 - Ob aktivnosti amilazi v ghepatopancreease i miřtah midii, Biol.Moria, 18: 89-98.
3. IORDACHESCU D., NICULESCU S., DUMITRU I.F., 1975 - Amylase extraction from hepatopancreas of Mytilus galloprovincialis, Recherches marines, 8: 155-161.
4. KRISTENSEN J.H., 1972 - Carbohydrases of some marine Invertebrates with notes on their food and on the natural occurrence of the carbohydrates studied, Mar.Biol., 14: 130-142.
5. LOWRY O.H., ROSENBOUGH N.J., FARR L.A., RANDALL B.I., 1951 - Protein measurement with Folin reactiv, J.Biol.Chem., 193: 265,275.
6. METAIS P., BIETH J., 1968 - Determination de l'alpha amylase par une microtechnique, Ann.Biol.Clin., 26: 133-142.
7. ROSOIU S.N., 1976 - Dynamique de l'activité amylasique chez la moule, pendant son cycle biologique annuel, Recherches marines, 9: 261-266.