

STRUCTURE ET COMPOSITION BIOCHIMIQUE DE LA GLANDES DIGESTIVE CHEZ *SEPIA ORBIGNYANA* (CEPHALOPODA : SEPIIDAE) EN FONCTION DE LA MATURITÉ SEXUELLE

GUEDIOURA Abdelmoumène^{1, 2*} et BOUKROUFA Fayçal²

1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie des Populations et des organismes, Université de Blida 1, B.P. 270 Blida 09000, Algérie.

2. Faculté des Sciences Biologiques, Laboratoire d'Océanographie, Biologique et Environnement Marins (LOBEM), USTHB, Alger.

Reçu le 18/02/2021, Révisé le 05/04/2021, Accepté le 09/04/2021

Résumé

Description du sujet : L'étude montre les particularités structurales de la glande digestive, la concentration et le profil des principaux métabolites qui y sont présents, ainsi que leur variabilité au cours de la maturation.

Objectifs : Etudier, pour la première fois, la structure et l'histochimie de la glande digestive de la seiche *Sepia orbignyana* et rechercher sa composition en lipides et en protéines durant sa maturité sexuelle.

Méthodes : Les coupes de la glande digestive sont colorées au Mann-Dominici, au Trichrome de Masson, à l'APS et au Noir Soudan B. L'évaluation des lipides totaux est réalisée avec un mélange chloroforme-méthanol et la détection de microquantité de protéines en solution selon une technique colorimétrique.

Résultats : L'épithélium de la glande digestive formé de cellules basales de remplacement et des cellules digestives renfermant des boules et des vacuoles à contenu soudanophiles est pseudostratifié, de type sécrétoire bordant une lumière réduite. Chez les deux sexes, les lipides présentent une faible teneur par rapport aux protéines. Les teneurs lipidiques totaux de la glande digestive, entre les stades de maturité et pour les deux sexes ne montrent aucune différence significative ($p > 0,05$). Contrairement aux femelles, le taux en protéines, chez les mâles, est significativement différent ($p < 0,05$) entre le stade 1 et le stade 2 ainsi qu'entre le stade 1 et le stade 3.

Conclusion : Les variations lipidiques et protéiques semblent plutôt être en relation avec la spermatogenèse et l'ovogenèse. Cette espèce a un métabolisme de base protéique. L'usage direct de ces protéines comme réserve d'énergie peut expliquer le manque majeur des réserves lipidiques chez cette espèce.

Mots clés : *Sepia orbignyana* ; glande digestive ; structure ; histochimie ; composition biochimique.

STRUCTURE AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF THE DIGESTIVE GLAND IN *SEPIA ORBIGNYANA* (CEPHALOPODA: SEPIIDAE) ACCORDING TO THE SEXUAL MATURITY

Abstract

Description of the subject: This study shows the structural features of the digestive gland, the concentration and the profile of the main metabolites present there, as well as their variability during the maturation.

Objectives: To study, for the first time, the structure and histochemistry of the digestive gland of the *Sepia orbignyana* cuttlefish and to search for its lipid and protein composition during sexual maturity.

Methods: Sections of the digestive gland are stained with Mann-Dominici, Masson's Trichrome, APS and Sudan Black B. The evaluation of the total lipids is carried out with a chloroform-methanol mixture and the detection of microquantity of proteins in solution according to a colorimetric technique.

Results: The epithelium of the digestive gland formed by replacement basal cells and digestive cells containing balls and vacuoles with sudanophilic content (lipids) is pseudostratified and secretory type bordering a reduced light. In both sexes, lipids have a low content relative to proteins. The total lipid levels between the three stages of maturity for both sexes showed no significant difference ($p > 0.05$). Unlike females, the protein level in males is significantly different ($p < 0.05$) between stage 1 and stage 2 as well as between stage 1 and stage 3.

Conclusion: lipid and protein variations seem rather to be related to spermatogenesis and oogenesis. This species has a protein base metabolism. The direct use of these proteins as energy reserve can explain the major lack of lipid reserves in this species.

Key words: *Sepia orbignyana*; digestive gland; structure; histochemistry; biochemical composition.

* Auteur correspondant : GUEDIOURA Abdelmoumène, E-mail : amguedioura@yahoo.fr

INTRODUCTION

Sepia orbignyana (FERRUSAC in d'ORBIGNY, 1826) (Cephalopoda : Sepiidae) est l'un des trois genres *Sepia* vivant et exploité commercialement en mer Méditerranée. Cette petite espèce de seiche est répartie dans l'océan Atlantique oriental le long de la côte africaine, du 17° au chenal anglais [1-5].

Sepia orbignyana est caractérisée par un manteau dont la longueur maximale du manteau est de 120 mm [1]. Le manteau est ovale, avec une extrémité dorsale antérieure fortement saillante. Elle se distingue par sa couleur rose marron (d'où son nom commun "la seiche rosée"), des autres Sepiidae pêchés sur nos côtes. Les bras des mâles et des femelles sont courts et subégaux avec quatre rangées de ventouses longitudinales. Les ventouses médianes des bras non-hectocolysés sont plus larges que ceux qui sont proximales. Le 4^{ème} bras gauche ventral des mâles est hectocotyliisé (bras copulateur). Ce bras hectocotyle présente sur ces deux tiers basaux des ventouses très petites disposées en zigzag tandis que celles du tiers distal sont disposées en quatre rangées longitudinales [6]. Les deux bras longs ne portent de ventouses que sur l'extrémité terminale sous forme de massue tentaculaire courte et ovale. Ces ventouses sont disposées en cinq à six rangées transversales ; elles varient nettement en taille. Trois sont nettement grandes dans la partie médiane et un peu plus petites de chaque côté d'elles [2, 7]. A l'intérieur du manteau se trouve une coquille «os de seiche», munie d'une épine très proéminente, toujours visible entre les lobes postérieurs de la nageoire formant le rostre. Cette coquille est allongée, aigüe en avant présentant des stries antérieures peu profondes, en forme de M, ou Ondulées [8-11].

Les aspects de la biologie de la reproduction de *Sepia orbignyana* ont été décrits et étudiés dans les différents bassins de la mer Méditerranée, ainsi que dans les eaux de l'Atlantique Est [1, 11, 3, 7, 4, 5]. Sur la côte algérienne, l'espèce *Sepia orbignyana* est peu connue des pêcheurs, des scientifiques ainsi que par le consommateur algérien. Elle n'a fait l'objet que de rares études portant sur sa reproduction [4]. Le manque d'information sur la biologie de cette espèce et sa classification actuelle en tant que données insuffisantes dans la liste rouge des espèces menacées de l'UICN nécessite l'acquisition d'informations sur certains des aspects de cette

espèce sur la côte algérienne. La structure du tube digestif et de ces organes annexes, qui constituent le principal moteur de la digestion, est l'un des aspects à acquérir puisqu'elle conditionne la reproduction et par conséquent la pérennité de l'espèce. Ce travail examine d'une part la structure et l'histochimie de la glande digestive et d'autre part de chercher à déterminer sa composition biochimique principalement en protéines et en lipides durant la maturation de *Sepia orbignyana* dans les eaux algériennes.

MATÉRIEL et METHODES

1. Prélèvement et échantillonnage

Pour l'étude histologique de la glande digestive un échantillonnage de 7 individus a été réalisé au mois de janvier 2015. Les glandes digestives sont prélevées et fixées au Bouin aqueux et au liquide de Ciaccio. Après une déshydratation alcoolique les pièces sont incluses dans de la paraffine. Des coupes de 7µm d'épaisseur sont colorées au Mann-Dominici, au Trichrome de Masson, à l'APS (+Test à l'amylase) et au Noir Soudan B.

2. Techniques biochimiques

La récolte des individus est effectuée au niveau de la poissonnerie du port d'Alger et celle de Bouharoun au moment des débarquements des chalutiers l'aide d'un chalut de fond. La période de récolte s'étale entre le mois de février 2016 et avril 2016. Les observations ont été effectuées sur un total de 59 individus. Le sexe et les stades de maturité sexuelle ont été déterminés macroscopiquement lors du traitement des échantillons en utilisant une échelle de maturité des céphalopodes à trois stades, chez les deux sexes, selon l'échelle MEDITS [13] utilisée pour *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758): stade I : immature, stade II: maturation et stade III: mature.

- *Dosage des lipides totaux* : L'évaluation des lipides totaux est réalisée selon la méthode de Folch et al. [14] en utilisant un mélange chloroforme-méthanol.

- *Dosage des protéines* : L'estimation quantitative des protéines est réalisée selon la méthode de Bradford [15], qui est une technique colorimétrique, permettant la détection de microquantité de protéines en solution.

3. *Technique morphométrique*

Les mensurations sont réalisées à l'aide d'un micromètre oculaire de marque ZEISS, et l'échelle est effectuée sur le logiciel Axio Vision Rel. 4.8.1.

4. *Technique photographique*

Les photos ont été réalisées à l'aide d'un microscope photonique ZEISS de type AXIOSKOP40, munis d'un appareil numérique CANON de type POWERSHOT A640 relié à un ordinateur.

5. *Traitement statistique*

Les données numériques et leurs analyses statistiques ont été effectuées sur Excel et sur Statistica 6. Pour ce travail, afin de voir si une différence significative existe pour les différents paramètres biochimiques au cours de la maturation sexuelle, le test de l'analyse de la variance à un facteur (ANOVA 1) a été réalisé. Une fois la significativité confirmée, un test HSD à N différent (Honest Significant Difference) a été effectué pour déterminer entre quels stades la différence est significative.

RÉSULTATS

1. *Structure de la glande digestive*

La glande digestive est composée de deux parties symétriques à l'œsophage. L'observation de sa structure en coupe transversale montre qu'elle est composée par des tubules dont la section est de forme polygonale. Ces tubules sont tapissés par un épithélium et entourés par un tissu conjonctif (Fig. 1A). L'épithélium est pseudostratifié et de type sécrétoire bordant une lumière réduite. Cet épithélium est constitué de différents types de cellules : Cellules basales et cellules digestives (Fig. 1B).

(i) *Cellules basales* : ce sont des cellules de forme pyramidale et se trouvent à la base de l'épithélium, d'où leur nom. Elles sont de petite taille avec une hauteur moyenne de 57.5 µm.

Ces cellules renferment un noyau apical arrondi d'un diamètre moyen de 30µm. Ce dernier est acidophile et se colore en rose renfermant une chromatine dispersée. Le cytoplasme, quant à lui, est basophile et se colore fortement en bleu violet (Fig. 1B).

(ii) *Cellules digestives* : ce sont des cellules palissadiques en forme de raquette. Ces cellules se répartissent sur l'ensemble des tubules. La partie inférieure de ces cellules est étroite tandis que la partie supérieure est plus large. Les cellules digestives présentent deux catégories :

(iii) *Cellules à boules* : ce sont des cellules haute d'une taille moyenne de 238 µm renfermant un noyau basal et arrondi avec un diamètre moyen de 35 µm. Il se colore en bleu violet il est donc basophile. Ces cellules renferment des boules de différentes tailles dont les grandes sont observées en position centrale et parfois en position apicale (Fig. 1B-C). Ces boules renferment des inclusions soudanophiles (Fig. 1D). L'extrémité apicale de certaines cellules à boules est munie d'une bordure en brosse (Fig. 1C).

(iv) *Cellules vacuolaires* : ce sont des cellules plus étroites et plus hautes avec une taille moyenne de 275 µm. Le noyau est basale et de forme arrondie avec un diamètre moyen de 43 µm. Il est basophile et se colore en bleu violet. Ces cellules possèdent une grande vacuole jaune au niveau de leur extrémité apicale (Fig. 1B). Elles sont également soudanophiles (Fig. 1D) et APS+ (Fig. 1E-F). Le cytoplasme basal des cellules digestives est basophile, tandis que leur cytoplasme apical est acidophile (Fig. 1B). Quelques vacuoles libres ou entourées par le cytoplasme sont observées dans la lumière des tubules digestifs. Le tissu conjonctif entourant les tubules, est riche en vaisseaux sanguins et en fibres collagènes colorées en vert. Ce tissu contient des fibroblastes denses et des capillaires sanguins colorés en rose. Quelques cellules sanguines libres sont observées dans le tissu (Fig. 1C).

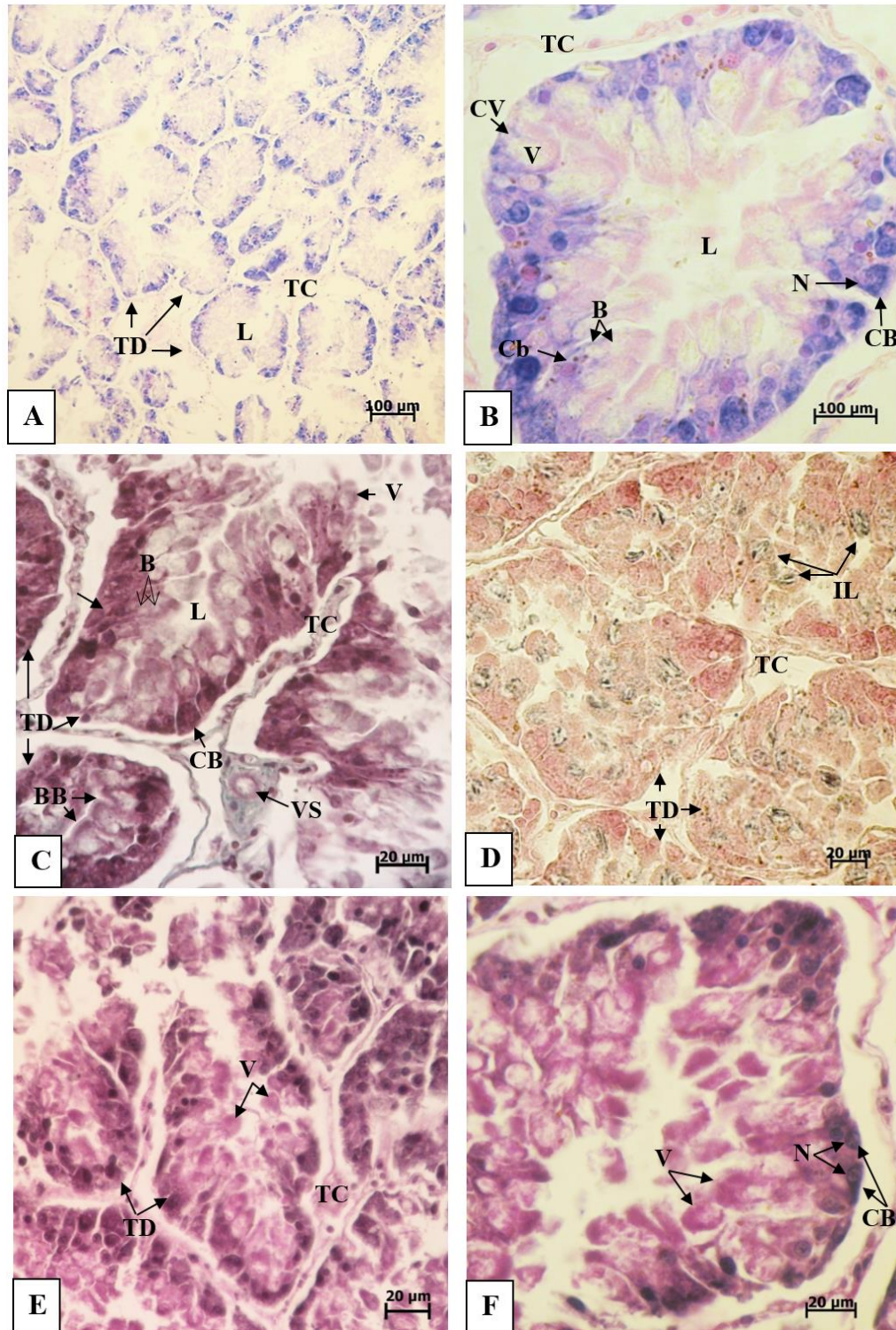


Figure 1 : Coupes histologiques de la glande digestive chez *Sepia orbignyana*

A : Vue d'ensemble de la structure de la glande digestive, constituée de tubules (TD) entourés par un tissu conjonctif (TC) et renfermant une lumière (L). Ciaccio, Mann Dominici. **B** : Détail d'un tubule digestif entouré d'un tissu conjonctif (TC). Ce tubule renferme une lumière centrale (L) bordée par des cellules basales (CB) à noyau apical (N). Il est également tapissé par des cellules vacuolaires (CV) renfermant une vacuole (V), et des cellules à boules (Cb) renfermant des boules (B). Ciaccio, Mann Dominici. **C** : Vue détaillée des tubules digestifs (TD) montrant une lumière (L) tapissée par des cellules basales (CB), des cellules à boules (Cb) renfermant des boules (B) et des cellules vacuolaires (CV) renfermant des vacuoles (V). Certaines cellules à boules possèdent une bordure en brosse (BB). Le tissu conjonctif (TC) renferme des vaisseaux sanguins (VS). Ciaccio, Trichrome de Masson. **D** : Vue détaillée des tubules digestifs (TD) entourés par un tissu conjonctif (TC) et envahis par des vacuoles renfermant des inclusions lipidiques (IL). Ciaccio, noir Soudan B. **E** : Vue détaillée des tubules digestifs (TD) entourés par un tissu conjonctif (TC) et envahis par des vacuoles (V) APS+. Ciaccio, APS. **F** : Vue détaillée d'un tubule montrant les vacuoles (V) APS+ et des cellules basales (CB) à noyau apical (N). Ciaccio, APS.

2. Composition biochimique de la glande digestive

2.1. Les lipides

La quantité des lipides la plus élevée a été observée chez les femelles du stade 1 (immature) avec une valeur de $127,97 \text{ mg/g} \pm 13,15$, celle-ci diminue jusqu'à $7,20 \text{ mg/g} \pm 0,14$ au stade 2 (en maturation). Une légère augmentation a été observée atteignant une valeur de $32,13 \text{ mg/g} \pm 3,15$ au stade 3 (mature)

(Fig. 2). Chez les mâles, le taux des lipides est relativement le même pour le stade 1 et 3 respectivement ($20,05 \text{ mg/g} \pm 0,55$; $21,04 \text{ mg/g} \pm 0,44$) ; alors qu'il est légèrement plus élevé au stade 2 ($28,85 \text{ mg/g} \pm 0,70$) (Fig. 2). Le test de l'ANOVA ne montre aucune différence significative de la teneur en lipides totaux entre les stades de maturité sexuelle pour les deux sexes ($p > 0,05$).

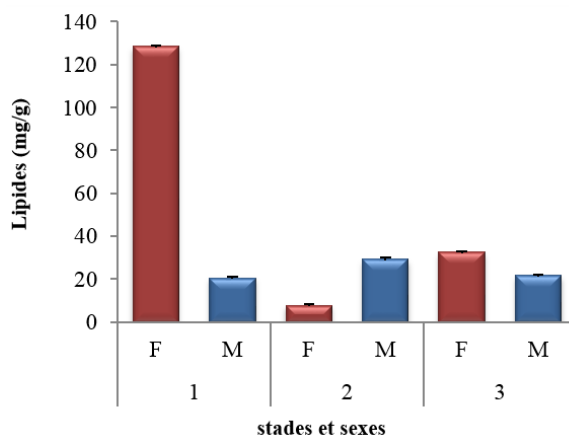


Figure 2 : Contenu lipidique dans la glande digestive mâles (M) et les femelles (F) en fonction des stades de maturité sexuelle (stades 1, 2, 3) chez *Sepia orbignyana*.

2.2. Les protéines

La quantité la plus élevée a été enregistrée chez les mâles du stade 1 avec une valeur considérable de $5241,656 \text{ mg/g}$; ensuite elle diminue jusqu'à une valeur de $295,30 \text{ mg/g} \pm 10,04$ au stade 2 et atteint la valeur de $145,78 \text{ mg/g} \pm 206,65$ au stade 3 (Fig. 3). Les femelles présentent une valeur de $271,98 \text{ mg/g} \pm 17,43$ au stade 1, une quantité moins importante a été enregistrée au stade 2 ($74,79 \text{ mg/g} \pm 2,07$) puis

cette quantité a augmenté jusqu'à $342,30 \text{ mg/g} \pm 10,67$ au niveau du stade 3 (Fig. 3). Malgré cette variation du taux de protéines chez les femelles, le test statistique d'ANOVA n'a signalé aucune différence significative entre les stades de maturité sexuelle ($p > 0,05$). Chez les mâles une différence significative ($p < 0,05$) entre le stade 1 et le stade 2 ainsi qu'entre le stade 1 et le stade 3 a été confirmée par le test HSD.

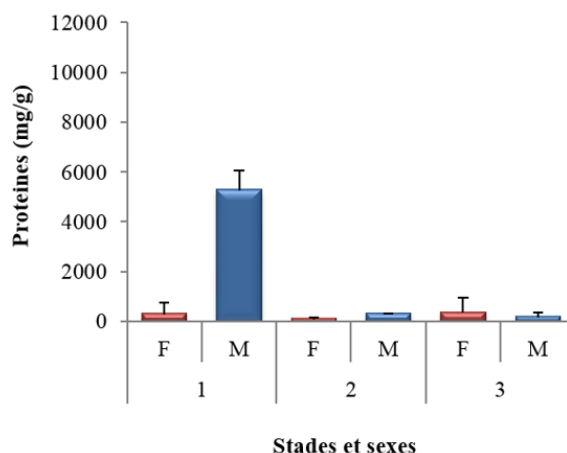


Figure 3 : Contenu protéique dans la glande digestive des mâles (M) et des femelles (F) en fonction des stades de maturité sexuelle (stades 1, 2, 3) chez *Sepia orbignyana*.

DISCUSSION

1. Glande digestive

L'analyse structurale de la glande digestive chez l'espèce étudiée montre qu'elle est de type tubulaire. La même structure est observée par et chez *Sepia officinalis* [16, 17], ainsi que chez *Octopus bimaculatus* [18]. En revanche, cette structure est décrite comme étant parenchymateuse chez *Loligo vulgaris* [19]. L'épithélium tubulaire chez *Sepia orbignyana* est composé de cellules basales et de cellules digestives. Ces dernières sont constituées de deux catégories de cellules : cellules à boules et cellules vacuolaires. Le même type de cellules est distingué chez *Sepia officinalis* [16, 17], tandis que d'autres sortes de cellules sont observées chez *Eledone cirrhosa* [20] : les cellules à boules, les cellules à grains réfringents et les cellules à corps gris. Par contre, l'épithélium de la glande digestive chez *Loligo vulgaris* est composé uniquement de cellules glandulaires [21, 19]. Sur l'échelle cellulaire, le cytoplasme des cellules basales pyramidales, chez *Sepia orbignyana*, présente une forte basophilie. Cette dernière est également observée chez *Eledone cirrhosa*, *Octopus vulgaris* et *Sepia officinalis* [16, 22, 20]. Ces auteurs supposent que cette basophilie est liée à une très forte activité de synthèse essentiellement due à la présence d'ARN. La basophilie des cellules digestives, quant à elle, est observée au niveau de la région basale. Elle est également décrite au niveau des cellules digestives chez *Sepia officinalis* [17] et au niveau des cellules glandulaires chez *Loligo vulgaris* [19]. Les cellules basales pyramidales représentent les cellules de remplacement qui vont assurer le renouvellement de l'épithélium par la division cellulaire [23]. En effet, les cellules digestives subissent des changements structuraux liés à la digestion. La glande digestive constitue ainsi une structure dynamique qui connaît des cycles de prolifération, de croissance et de différenciation cellulaire [24]. Au niveau des cellules à boules, on suppose que les boules sont les supports des enzymes protéolytiques et constituent le principal type de sécrétion chez *Sepia officinalis* [23]. En effet, la glande digestive chez *Octopus vulgaris* présente une activité protéolytique importante [22]. De plus, après les tests protéiques, les boules montrent chez *Sepia officinalis* une forte réaction à l'APS, et sont de nature glycoprotéique [17].

La très forte présence de boules dans la glande digestive implique une forte activité enzymatique et un rôle de la glande digestive dans la digestion chez *Sepia officinalis* [17, 25]. En plus de ce rôle de synthèse, la présence d'une bordure en brosse au niveau de ces cellules chez *Sepia orbignyana* fait penser à un rôle d'absorption des substances solubles provenant de la digestion, comme il est montré par plusieurs auteurs [26, 27, 28]. Les cellules vacuolaires chez *Sepia orbignyana* renferment des vacuoles à contenu lipidique hétérogène. Le même contenu soudanophile est observé chez *Sepia officinalis*, *Loligo vulgaris*, et *Eledone cirrhosa* [26, 23, 17, 27, 19, 22]. Certains auteurs réservent l'appellation « corps bruns » aux contenus des vacuoles [27, 23, 22, 19]. Chez *Sepia orbignyana*, la lumière de certains tubules renferme des vacuoles libres. Leur présence est également chez *Eledone cirrhosa* [22]. Il s'agit probablement d'excrétion des résidus de la digestion intracellulaire. Chez *Sepia officinalis* les vacuoles renferment divers débris cytoplasmiques et des régions plus foncées qui correspondent probablement aux lipides et aux pigments décelés par les méthodes histochimiques [16, 29]. En effet, la présence des vacuoles est impliquée dans la fonction excrétrice de la glande digestive [25, 26]. Une partie des lipides est mise en réserve alors qu'une autre est utilisée dans la croissance somatique [30]. En effet, la fraction lipidique possède une origine endogène participant ainsi à la formation du vitellus chez *Sepia officinalis* [31]. Cette fraction lipidique est transmise aux cellules folliculaires via les vaisseaux sanguins. La richesse de la glande digestive en vaisseaux sanguins laisse supposer qu'elle pourrait être l'origine endogène des lipidiques assurant la formation vitelline. A cet effet, et des variations de la teneur en lipides de la glande digestive sont mises en évidence et ont pu être relié à la reproduction et à la maturation sexuelle des Céphalopodes [32, 33]. La complexité structurale de la glande digestive chez *Sepia orbignyana* montre que cet organe joue différents rôles dans la digestion. En effet, chez *Octopus vulgaris* et *Sepia officinalis*, la présence de grains témoigne la fonction sécrétrice, la bordure en brosse de la fonction absorbante, la présence de vacuoles de la fonction excrétrice et les boules de la fonction d'accumulation de réserve lipidique [21, 23, 30, 34].

2. Composition biochimiques

Dans la présente étude, l'analyse des deux paramètres biochimiques (lipides et protéines) de la glande digestive, chez les deux sexes a montré une variation en rapport avec les différents stades de maturité sexuelle observée (stade 1, stade 2, stade 3). En effet, les lipides présentent une faible teneur par rapport aux protéines qui montrent des valeurs beaucoup plus élevées. La quantité lipidique chez les femelles immature est relativement élevée, et une diminution est enregistrée au cours de la maturation. Les lipides sont plutôt utilisés dans la formation des gamètes femelles [35] puisque, ce même auteur, indique une augmentation de la quantité lipidique en pré-ponte, et une diminution après émission des gamètes. D'autre part, les lipides jouent un rôle important dans la formation des gamètes et sont utilisés dans la synthèse du vitellus [36]. D'autre part, le taux des lipides a été relativement faible chez les mâles en maturation et matures. Ces résultats ont laissé penser que les lipides interviendraient dans la formation des spermatophores, qui sont le lieu de stockage des spermatozoïdes avant la reproduction. De ce fait, la diminution de la fraction lipidique totale qui a été observée au niveau de la glande digestive, lieu de l'absorption, de la digestion intra cellulaire et stockage des réserves [22], suggère que ces composants carboniques ne sont pas directement utilisés par la spermatogenèse et l'ovogenèse. Cette observation est confortée par Seibel et al. [37], qui ont signalé également que la grande concentration en lipides dans la glande digestive de la femelle fournit l'énergie nécessaire pour supporter l'incubation prolongée des œufs chez les Octopodidae. Ces résultats sont en accord avec les observations faites chez *Octopus tehuetchus* où la période de privation de nourriture peut entraîner l'épuisement du tissu musculaire avec une diminution marquée de la teneur en protéines dans le muscle [38]. Cet épuisement des sources d'énergies peut contribuer à la mort de la femelle à la fin de leur cycle reproductif [38]. Par ailleurs, chez les mâles immatures, la glande digestive, renferme la quantité la plus élevée en protéines alors qu'elle est très faible chez les femelles. Chez les deux sexes, cette quantité en protéines diminue en fonction de la maturité sexuelle. Chez *Eledone moschata* et *Eledone cirrhosa* [39] ainsi que, Chez *Illex coindetii* et *Todaropsis eblanae* [40],

la concentration en protéines est plutôt gonadique chez les femelles matures, puisque au cours de l'ovogenèse s'effectue la formation du vitellus de nature protéique. Ainsi, la production des œufs, chez les Sepiidae, utilise plutôt l'énergie fournie directement des aliments que celle des autres réserves stockées. Cette acquisition directe de l'énergie à partir des aliments a été également signalée par beaucoup d'auteurs pour différentes espèces de seiches [41] ainsi que pour les calmars dans les eaux tempérées et tropicales [42].

CONCLUSION

La complexité structurale de la glande digestive montre que cet organe joue différents rôles dans la digestion. En effet, chez *Sepia orbignyana*, la présence de grains témoigne la fonction sécrétrice, la bordure en brosse de la fonction absorbante, la présence de vacuoles de la fonction excrétrice et les boules de la fonction d'accumulation de réserve lipidique. La composition biochimique de la glande digestive montre des taux variés en protéines et en lipides. En effet, les lipides présentent une faible teneur par rapport aux protéines avec des valeurs beaucoup plus élevées. Chez l'espèce étudiée, les variations lipidiques et protéiques semblent être en relation avec la spermatogenèse et l'ovogenèse. *Sepia orbignyana* a un métabolisme de base protéique, l'usage direct de ces protéines comme réserve d'énergie peut expliquer le manque majeur des réserves lipidiques chez cette espèce comme l'ensemble des céphalopodes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Mangold - Wirz K. (1963). Biologie des céphalopodes benthiques et nectoniques de la Mer Catalane. *Vie et Milieu*, 13 (Suppl.) : 285 pp.
- [2]. Mangold K. & Boletzky S.V. (1987). Céphalopodes. In : *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision1) Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. 1, Végétaux et invertébrés*, (W. Fischer, M.L. Bauchot & M. Schneider eds), FAO, Rome : 633-714.
- [3]. Dursun D., Eronat E.G.T., Akalin M. & Salman M.A. (2013). Reproductive biology of pink cuttlefish *Sepia orbignyana* in the Aegean Sea (Eastern Mediterranean). *Turkish Journal of Zoology*, 37: 576-581.
- [4]. Guedioura A., Boukroufa F. & Rebzani-Zahaf C. (2016). Fishery biology of *Sepia orbignyana* (Férussac In d'Orbigny, 1826) (Cephalopoda: Sepiidae) from the Algerian coast (Southwestern Mediterranean Sea). *Cahiers de Biologie Marine*, 57: 125-136.
- [5]. Krstulović Šifner S., Damjanović T. & Isajlović I. (2018). Distribution, length-weight relationships and reproductive characteristics of *Sepia orbignyana* Férussac, 1826 in the Northern and Central Adriatic Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, 59: 43-51. DOI : 10.21411/CBM.A.B9291A6E

- [6]. **Tixier A.E. & Gaillard J.M. (1969).** *Anatomie animale et dissection. Zoologie* (Vigot Frères 3^{ème}. ed), Paris : 375pp - 242 figures.
- [7]. **Jereb P., Allcock A. L., Lefkaditou E., Piatkowski U., Hastie L.C. & Pierce G.J. (2015).** Cephalopod biology and fisheries in Europe: II. Species accounts. *ICES Cooperative Research Report*, 325: 360 pp.
- [8]. **Nesis K.N. (1982).** *Abridged key to the cephalopod molluscs of the world's ocean.* Light and Food Industry Publishing House; Moscow, Russia: 385pp.
- [9]. **Nesis K.N. (1987).** *Cephalopods of the world: squids, cuttlefishes, octopuses and allies.* Tropical Fish Hobbyist Publications, Inc. Neptune City, New Jersey: 351pp.
- [10]. **Neige P. & Boletzky S.V. (1997).** Morphometrics of the shell of three *Sepia* species (Mollusca: Cephalopoda): Intra- and interspecific variation. *Zool. Beitr. N. F.*, 38 (2): 137-156.
- [11]. **Reid A., Jereb P. & Roper C.F.E. (2005).** Family Sepiidae. In: *Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of Cephalopod species known to date. 1. Chambered Nautilus and Sepioids (Nautilidae, Sepiidae, Sepiolidae, Sepiadariidae, Idiosepiidae and Spirulidae)* (P. Jereb & C.F.E. Roper eds). *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*, 4(1): 262 pp.
- [12]. **Jereb P. & Ragonese S. (1991).** *Sepia elegans* and *Sepia orbignyana*: first studies on the presence of the elegant and pink cuttlefish in the Sicilian Channel. In: *Acta of the first International Symposium on the cuttlefish Sepia* (E. Boucaud Camou ed), Université de Caen: Caen: 17-29.
- [13]. **Ices 2010.** Report of the workshop on sexual maturity staging of Cephalopods, 8-11 November 2010, Livorno, Italy. *ICES CM 2010/ACOM*, 49: 97 pp.
- [14]. **Folch J., Lees M. & Stanley G.H.S. (1957).** A simple method for the isolation and Purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497-509.
- [15]. **Bradford M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein –dye binding. *Analyt Biochim.*, 72: 248-254.
- [16]. **Boucaud-Camou E. (1968).** Etude histologique et histochimique de l'appareil digestif de *Sepioteuthis atlantica* d'Orbigny et *Sepia officinalis* L. *Bull. Soc. Linn* 2 (10) : 220-243.
- [17]. **Yanat M. (1994).** Etude structurale, ultrastructurale, approche enzymatique du tube digestif et étude du régime alimentaire d'un céphalopode *Sepia officinalis* (Linné ; 1758). Thèse de Magister : Ecosystèmes Marins Côtiers. U.S.T.H.B., Alger : 141 pp.
- [18]. **Lopez-Peraza D., Hernandez-Rodriguez M. & Baron-Sevilla B. (2014).** Ontogeny of the digestive system of the *Octopus bimaculatus* paralarvae (Verrill, 1883). *Springer Plus*, 3: 22, 10 p.
- [19]. **Beloui O. (1994).** Etude structurale, ultrastructurale et approche enzymatique du tube digestif d'un céphalopode : *Loligo vulgaris* (Lamarck, 1778). Thèse de Magister : Embryologie-histologie. U.S.T.H.B., Alger : 67p.
- [20]. **Boucher-Rodoni R. (1982).** *La glande digestive des Céphalopodes, organe de synthèse et sécrétion d'enzymes digestives.* Cahiers de biologie marine tome XXII: 299-318.
- [21]. **Bidder A.M. (1950).** The digestive mechanism of the European squids, *Loligo vulgaris*, *Loligo forbesi*, *Alloteuthis media* and *Alloteuthis subulata*. *Quart. J. Microscop. Sci.*, 91: 1-43.
- [22]. **Boucher-Rodoni R. (1981).** Etude de la glande digestive de deux céphalopodes, au cours de la digestion et au cours du cycle de vie. Thèse de doctorat : sciences naturelles. Centre d'ORSAY., Paris : 176 p.
- [23]. **Boucaud-Camou E. & Pequignat E. (1973).** Etude expérimentale de l'absorption digestive chez *Sepia officinalis* L. *Forma et Fonction*, 6 : 93-112.
- [24]. **Ivanovic, M.L. & Brunetti N.E. (2002).** Descripción morfológica e histológica del aparato digestivo del calamar *Illex argentinus* (Cephalopoda : ommastrephidae). *Rev. Invest. Desqarr. Pesq.*, 15 : 27-41.
- [25]. **Bidder A.M. (1966).** *Feeding and digestion in Cephalopods.* In: *Physiology of Mollusca.* (Ed. KM Wilbur and C. Youge), New York, Acad. Press., 2: 97-124.
- [26]. **Cuenot L. (1907).** *Fonction absorbante et excrétrice du foie des Céphalopodes.* *Archives de zoologie expérimentale et générale*, IV^e série, tome VII : 227-245.
- [27]. **Bidder A.M. (1957).** Evidence for an absorptive function in the "liver" of *Octopus vulgaris*. *Publ. Stat. Zool. Napoli*, 39: 139-150.
- [28]. **Boucaud-Camou E. (1972).** Etude infrastructurale du pancréas de *Sepia officinalis*. *Bull. Soc. Zool. France.* 97 (2) :197-203.
- [29]. **Boucaud-Camou E. (1971).** Constitution lipidiques de foie de *Sepia officinalis* (L). *Mar. Biol.* : 66-69.
- [30]. **Boucher-Rodoni R. (1976).** Etude histologique du tube digestif de deux céphalopodes, *Eledone cirrhosa* (Octopoda) et *Illex illecebrosus* (Teuthoidea) au cours de la digestion. *Cahiers de biologie marine* tome XXII : 245-260.
- [31]. **Oumouna M. (1991).** Contribution à la croissance de la biologie de la reproduction de la seiche *Sepia officinalis* L. (Mollusque : Céphalopode) sur la côte de Cherchell. Thèse de Magister. I. S. N., U.S.T.H.B., Alger : 203 pp.
- [32]. **Kawata H. & Takahashi T. (1955).** Studies on the utilization of cuttlefish (*Ommastrephes sloani pacificus*). I. The seasonal variation of the weight and constituent in the various parts of fish body. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries*, 20 (10): 888-890.
- [33]. **Giese A.C. (1969).** A new approach of the biochemical composition of the mollusc body; *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 7: 175-229.
- [34]. **Boucaud-Camou E. & YIM M. (1980).** Fine structure and function of the digestive cell of *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda). *Journal of Zoology*, 191: 89-105.
- [35]. **Pollero R. J., Re M. E. & Brenner R.R. (1979).** Seasonal changes of the lipids of the mollusc *Chlamys tehuilcha*. *Comp. Biochem. Physiol.* 64A: 257-263.
- [36]. **Fujii T. (1960).** Comparative biochemical studies on the egg-yolk proteins of various animal species. *Acta Embryol Morphol Exp.*, 3: 260-285.
- [37]. **Seibel B. A. & Childress J.J. (2000).** Metabolism of benthic octopods (Cephalopoda) as a function of habitat depth and oxygen concentration. *Deep-Sea Res. I.*, 47:1247-1260.

- [38]. **Pollero, R. & Iribarne O. (1988)**. Biochemical changes during the reproductive cycle of the small Patagonian octopus, *Octopus tehuelchus*, D'Orb. *Comp. Biochem. Physiol.* 90B: 317–320.
- [39]. **Rosa R., Costa P.R., Pereira J. & Nunes M.L. (2004)**. Biochemical dynamics of spermatogenesis and oogenesis in *Eledone cirrhosa* and *Eledone moschata* (Cephalopoda: Octopoda). *Comparative Biochemistry, Part B.*, 139: 299-310.
- [40]. **Rosa R., Costa P. R., Bandarra N. & Nunes M.L. (2005)**. Changes in tissue biochemical Composition and energy reserves associated with sexual maturation in the Ommastrephid Squids *Ilex coindetii* and *Todaropsis eblanae*. *Biol. Bull.*, 208: 100-113.
- [41]. **Gabr H.R., Hanlon R.T., El-Etreby S.G. & Hanafy M. H. (1999)**. Reproductive versus somatic tissue growth during the life cycle of the cuttlefish *Sepia pharaonis* Ehrenberg, 1831. *Fish. Bull.*, 97:802-811.
- [42]. **Guerra A. & Castro B.G. (1994)**. The life history of *Loligo vulgaris* and *Loligo forbesi* (Cephalopoda: Loliginidae) in Galician waters (NW Spain). *Fish. Res.*, 21:43-69.