

ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA TRANSITION PRISMES/NACRE DANS LE TEST DE PINNA NOBILIS L. (MOLLUSQUE, LAMELLIBRANCHE)

Jean-Pierre CUIF *, Alain DENIS *, Daniel FLAMAND *,
Benoît FREROTTE *

Résumé : Des préparations permettant de mettre en évidence les caractéristiques internes des unités microstructurales formant les deux couches du test de *Pinna nobilis* L. ont été complétées par des analyses portant sur la phase organique de ces biocristaux. Les données recueillies illustrent les possibilités de ce type de recherche pour la reconstitution des processus de sécrétion du test chez les Mollusques, et montrent également qu'il est possible d'envisager une application paléocologique fondée sur les variations de composition des biocristaux au cours de leur croissance.

Abstract : The structure of the skeletal components in external (prismatic) and internal (nacreous) layers of *Pinna nobilis* L. has been observed by means of specific reacting agents. Some other data on the organic matrix (amino acids composition) and sulphur concentration are also provided. They give some informations on changes in the secretory processus during the prismatic/nacreous transition.

1. — INTRODUCTION

Dans un article antérieur (CUIF *et al.*, 1983 a), consacré à la microstructure du test de *Pinna nobilis* L., nous avons mis en évidence l'intérêt que présente cette espèce pour l'étude des phénomènes de biominéralisation. Les caractéristiques géométriques simples des primes qui forment l'essentiel du test, leurs dimensions exceptionnelles, en font des modèles très bien adaptés à l'analyse des modalités de formation des structures squelettiques chez les Mollusques.

Depuis ce précédent travail, des observations complémentaires ont permis d'acquérir un ensemble significatif de renseignements concernant les modalités de la transition entre les deux couches minéralisées successives qui forment le test de ces Lamellibranches : la

* Laboratoire de Pétrologie sédimentaire et Paléontologie, Université Paris XI, F 91405 Orsay, U.A. 723 du C.N.R.S.

couche prismatique externe et la nacre qui, comme chez un grand nombre de Mollusques, se trouve mise en place dans une seconde phase de sécrétion, et double ainsi côté interne la structure édiflée dans la première phase de squelettogenèse.

Là encore, les espèces du genre *Pinna* constituent un modèle intéressant car cette évolution microstructurale porte à la fois sur l'aspect morphologique des composants et sur leur composition minéralogique : les prismes de la couche externe sont calcitiques alors que les cristaux de la couche interne sont aragonitiques.

Le phénomène de transition par lequel le manteau de ces Mollusques passe d'un mode de sécrétion à l'autre constitue donc une étape très importante dans le fonctionnement de l'épithélium palléal. D'une façon générale, dans l'Embranchement des Mollusques, cette transition est très mal connue, aussi bien dans ses aspects biochimiques que physiologiques.

C'est un des intérêts de l'analyse ultrastructurale des biocristaux que de permettre de déceler, par l'analyse topographique et chimique localisée, les transformations qui ont eu lieu au niveau des structures squelettiques mises en place, au cours de phénomènes qu'on ne sait pas encore étudier au moment où ils se produisent. Comme il est maintenant bien établi que les biocristaux composant les tests carbonatés sont des structures résultant de l'association d'une phase minérale (qui leur donne leurs propriétés cristallographiques connues depuis longtemps), et d'une phase organique (encore très mal connue), le principe des recherches ultrastructurales consiste à associer des préparations qui permettent d'observer la disposition des composants minéraux élémentaires, et des moyens d'analyse chimique localisée (ici l'émission X), qui associent aux renseignements topographiques des données relatives à la composition des phases en présence.

Nous pouvons ainsi réaliser une première approche du déroulement des processus de squelettogenèse et tenter de retrouver, à travers l'évolution des paramètres étudiés dans les biocristaux du test, les phénomènes biologiques affectant l'épithélium palléal au cours de l'ontogenèse.

2. — MATERIEL ET METHODES

Les matériaux qui ont fait l'objet de cette étude proviennent d'un peuplement de *Pinna nobilis* L., localisé devant l'anse de La Palu, dans l'île de Port-Cros (Var, France, Méditerranée).

Les prélèvements ont été effectués au cours des campagnes de juin 1981 et juillet 1983, par — 20 à — 25 m de fond. Les petits fragments de la bordure palléale des spécimens vivants ont été immédiatement congelés pour assurer une préservation optimale des composants biochimiques du test. Au laboratoire, deux types d'analyse ont été mis en œuvre pour préciser l'organisation des biocristaux formant le test de cette espèce.

2.1. — Recherche de renseignements d'ordre topographique : rapports géométriques des phases organiques et minérales

L'analyse ultrastructurale vise à établir les relations précises entre ces deux types de composants, et la méthode utilisée dans cette première phase de

la recherche consiste à effectuer une dégradation sélective de certains des composants en présence, par des agents convenablement choisis.

Décalcifications : Les éléments organiques peuvent être mis en évidence en réalisant une destruction de la phase minérale par des moyens assurant la fixation des composés biochimiques fragiles associés au carbonate. Ainsi, dans les prismes de la couche externe des *Pinna* étudiés ci-dessous, la décalcification classique à l'E.D.T.A. met très facilement en évidence les gaines périsprismatiques, mais disperse le réseau organique intracrystallin. Pour assurer la conservation de celui-ci, nous avons utilisé une solution décalcifiante et fixatrice préconisée par MUTVEI (1970, 1977), qui a obtenu avec elle des résultats très significatifs sur les cristaux de nacre de Céphalopodes.

Protéolyse : La destruction sélective du matériel organique, permettant la mise en évidence de la disposition des composants minéraux élémentaires, est réalisée par de multiples moyens. Les oxydants classiques introduisant des risques excessifs de dissolution de la phase minérale, nous nous sommes orientés vers l'emploi de solutions enzymatiques agissant à des pH qui réduisent autant que possible (mais pas complètement) les influences sur la morphologie des éléments de la phase minérale, et nous avons également obtenu des résultats très intéressants par l'emploi de milieux de cultures bactériennes, dont les propriétés protéolytiques semblent bien adaptées à ce genre de recherche (FREROTTE *et al.*, 1983).

2.2. — Recherche de données concernant le composant biochimique

Une première évaluation (sans doute très sommaire), des modifications métaboliques intervenant au cours de la transition prisme/nacre, est fournie par la comparaison des acides aminés présents dans les phases organiques associées à chacune des catégories de biocristaux. Une littérature assez abondante existe sur ce sujet (NAKAHARA *et al.*, 1980). Outre les compléments d'information qu'elles apportent, les analyses effectuées ici ont eu pour objectif de vérifier la possibilité d'utilisation de la microsonde électronique pour détecter, de façon non destructive et localisée, les deux acides aminés contenant du soufre (cystéine et méthionine), dont les proportions sont très nettement distinctes dans la calcite et l'aragonite qui forment les deux couches successives du test des *Pinna*. La corrélation très précise de la localisation du soufre avec le changement microstructural peut ainsi être établie de façon directe.

3. — RESULTATS ET DISCUSSION

Plusieurs publications (CUIF *et al.*, 1980, 1982, 1983 *b*) ont contribué à mettre en évidence les caractéristiques internes des prismes de *Pinna nobilis*, composants microstructuraux connus de longue date du point de vue géométrique, mais chez lesquels les données relatives à une organisation longitudinale des phases organique et minérale n'ont été acquises que récemment. Les figures 1 à 4, fournissent les éléments essentiels de ces résultats, nécessaires pour apprécier l'importance des transformations correspondant au passage à la nacre.

3.1. — Aspects topographiques du passage à la nacre chez *Pinna nobilis*

Chez les *Pinna*, la production de la couche nacréée est un phénomène très tardif. Ainsi, chez les *P. nobilis* de Méditerranée, des spécimens peuvent mesurer 60 à 70 cm de longueur et la nacre ne couvrir que le tiers apical des valves (20 à 25 cm).

L'observation des sections longitudinales des valves montre en outre que leur croissance en épaisseur cesse relativement tôt. L'allongement des prismes de la couche externe est extrêmement ralenti,

sinon complètement interrompu, après le premier tiers de la longueur du test à partir de la bordure palléale. Cet état de chose est bien attesté par l'aspect de la surface de croissance des prismes : durant leur phase d'allongement, ils présentent le système de crêtes parallèles à la bordure palléale (fig. 1), dont nous avons pu montrer dans un travail précédent (CUIF et RAGUIDEAU, 1982) qu'elles correspondaient aux lames longitudinales parallèles assurant la continuité cristalographique des prismes. Ensuite, dans les zones plus internes où la croissance longitudinale des prismes est arrêtée, les surfaces distales de ces composants ne montrent plus cette disposition. Ainsi, c'est sur une surface régulière que va se développer la couche interne du test (fig. 5 et 6).

Présence d'une zone organique assurant l'isolement entre les compartiments prismatiques et nacrés

Du point de vue microstructural, l'observation des faces internes des valves de *P. nobilis* dans la zone de transition, montre que la mise en place de la couche nacrée débute par la formation d'une lame recouvrant la surface interne des prismes. Le front de progression de cette lame intermédiaire paraît assez irrégulier, car elle est produite sous forme d'éléments disjoints qui confluent au cours de leur accroissement latéral (fig. 6).

Après la très longue phase d'interruption de croissance des prismes calcitiques, la production de structure squelettique recommence donc par la formation d'une zone peu minéralisée qui va complètement isoler le compartiment calcitique.

Les données acquises sur d'autres genres (*Pinctada* ou *Perna* par exemple) suggèrent qu'il pourrait s'agir là d'un phénomène général, en corrélation avec l'inversion minéralogique calcite/aragonite qui se produit à ce moment. Le développement de cette structure est en effet absent dans tous les cas étudiés où la minéralogie ne change pas entre les couches successives.

La nature organique de cette lame est également attestée par la mise en évidence de sa richesse en soufre. Les spectres d'émission X permettent d'établir l'absence de calcium dans cette couche, dont cependant les éléments constitutifs présentent les aspects ordinaires de la nacre. L'observation de son mode de mise en place révèle en effet qu'elle résulte de la fusion d'éléments initialement distincts, d'aspect polygonal (fig. 8 et 9). La confluence de ces pseudo-cristaux, peut-être en rapport avec leur absence de minéralisation, aboutit à former la couche organique très épaisse, visible en fig. 7.

Ultrastructure aciculaire des cristaux de nacre. Différenciation des enveloppes en secteurs, transformations biochimiques corrélatives du changement de sécrétion

La reprise de la production minérale, qui aboutit à la formation des cristaux aragonitiques, est marquée par de très importants changements affectant les processus de sécrétion de l'épithélium palléal.

- transformation morphologique des unités microstructurales,
- transformation ultrastructurale portant sur l'organisation interne de la phase minérale,

— transformation biochimique du composant organique, probablement la plus fondamentale mais encore très mal appréciée.

3.1.1. — Alors que les premiers éléments produits étaient des prismes polygonaux rectilignes, on constate que les cristaux de nacre de *Pinna nobilis* présentent une forme quadrangulaire parfaitement caractérisée dès les stades les plus précoces de leur mise en place. L'examen des surfaces de croissance, en l'absence de toute préparation, permet d'observer leur arrangement extrêmement ordonné, les axes longitudinaux étant parallèles, dans des ensembles qui doivent correspondre à des unités de sécrétion (fig. 10).

3.1.2. — Les traitements enzymatiques permettent d'observer l'organisation interne des cristaux de nacre, en dégradant plus ou moins profondément la partie superficielle de leur enveloppe organique. Une disposition en secteurs triangulaires à sommets opposés apparaît alors très nettement (fig. 11). Cette zone particulièrement sensible à l'action protéolytique des enzymes, met en évidence la disposition des composants minéraux élémentaires en bâtonnets parallèles, orientés normalement aux surfaces du rectangle que forme chaque cristal (fig. 12).

La sensibilité à la protéolyse de ces secteurs triangulaires, peut être corrélée avec une observation immédiate permise par les préparations brutes : dans leur enveloppe organique apparaissent des granules dont la localisation correspond exactement à ces zones mises en évidence par la protéolyse : deux triangles opposés par leurs sommets, leurs bases formant les petits côtés du cristal (fig. 13). Cette disposition est peut-être à mettre en rapport avec les observations de H. Mutvei sur la nacre de *Mytilus*, dans laquelle une continuité entre cristaux successifs est réalisée par la présence d'éléments qui traversent les enveloppes organiques parallèles (MUTVEI, 1979).

Cette organisation générale des cristaux de nacre de *Pinna nobilis*, est à rapprocher également d'une disposition analogue, en secteurs plus ou moins réguliers, qui a pu être mise en évidence dans les nacres de morphologie plus classique (Lamellibranches ou Gastéropodes), par H. Mutvei (1980).

On observe également que les nouveaux cristaux formés sont localisés préférentiellement sur les surfaces triangulaires mises en évidence par la protéolyse : il est très fréquent (quoique non absolu) de trouver sur la face externe d'un grand cristal rectangulaire deux petits cristaux en cours de formation, localisés avec précision sur ces zones triangulaires privilégiées (fig. 14).

Sous l'action des solutions enzymatiques, ces cristaux néoformés montrent très nettement eux aussi, l'organisation en composants élémentaires aciculaires, disposés perpendiculairement à leur surface externe (fig. 15 et 16).

3.1.3. — Relation entre l'évolution microstructurale et les transformations biochimiques :

Dans la littérature (TRAVIS *et al.*, 1967, WEINER *et al.*, 1983), les transformations biochimiques corrélatives des changements micro et ultrastructuraux que nous venons d'observer brièvement, ne sont pour

l'instant appréciées que d'une manière globale. Les dosages biochimiques ne peuvent en effet être conduits que sur des structures ayant atteint leur état définitif, pour pouvoir fournir une quantité suffisante de matériel. De ce fait, les phénomènes de transition ne peuvent être analysés et c'est pourquoi les conceptions actuelles présentent les transformations microstructurales comme des phénomènes de remplacement instantané.

Il est vraisemblable au contraire, que les transformations liées à ces transitions complexes correspondent à des réarrangements métaboliques progressifs, dont la connaissance donnerait une bien plus grande validité aux définitions des catégories microstructurales qui résultent de ces phénomènes.

La recherche d'une localisation d'éléments chimiques, indice des transformations métaboliques, est donc un aspect essentiel de cette recherche, illustré ici par la détection du soufre au cours de la transition prismes/nacre.

Les caractères exceptionnellement favorables des structures édifées par les diverses espèces du genre *Pinna* pour les recherches biocristallographiques (*P. pectinata* L., *P. attenuata* Reeve) en font une des formes les mieux documentées sur le plan de sa composition (avec la *Pinctada margaritifera* L., l'huître perlière).

Ainsi, la composition en acides aminés de la couche prismatique totale (prismes et gaines) a été déterminée par BRICTEUX-GREGOIRE et al (1968). Les résultats obtenus sur les spécimens récoltés à Port-Cros confirment les valeurs relevées lors de ces premières observations (tableau I), mais permettent également, par la réalisation d'analyses portant séparément sur les enveloppes et les biocristaux eux-mêmes, de mieux établir les rapports avec les données localisées en émission X.

TABLEAU I. — Dosage des acides aminés (résultats donnés en ‰) tr = traces, D : Matrice organique insoluble (gaine des prismes). E : Prismes isolés par dégradation naturelle des gaines. F : Prismes isolés par action de l'hypochlorite de sodium (10-13° Cl₂ - 24 h). G : Nacre seule.

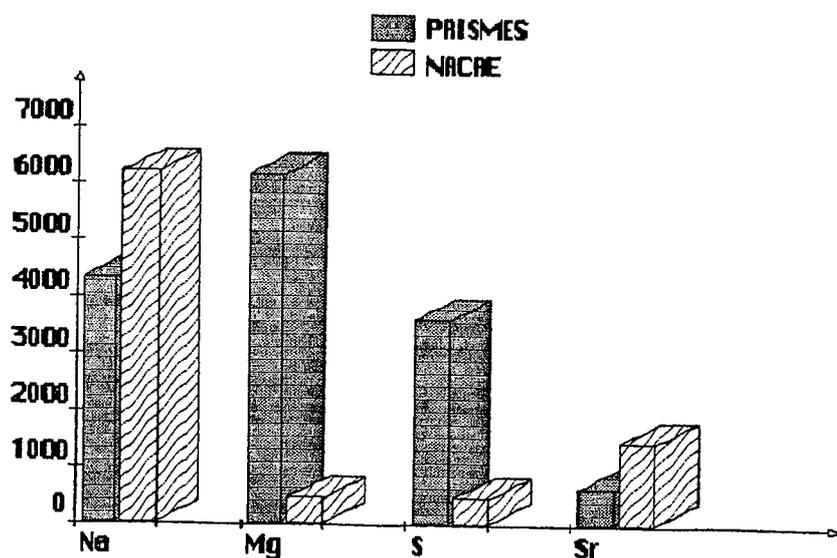
	A	B	C	D	E	F	G
Asp.	233	158	205	46	450	628	112
Thr.	15	51	22	27	22	22	12
Ser.	46	17	58	92	81	54	97
Glu.	19	54	18	17	32	41	30
Pro.		17	17	38	16	11	10
Cys.	22	21	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Gly.	369	tr.	373	+ Ala : 297	198	89	+ Ala : 388
Ala.	57	400	56		82	80	
Val.	56	51	52	94	38	21	18
Met.		51		21			tr.
Ileu.	34	3	34	66	20	11	16
Leu.	45	31	48	77	24	11	25
Tyr.	53	54	22	117	0	0	13
Phe.	24	79	24	43	0	0	15
His.	5	28	5	14	14	11	5
Lys.	6	5		13			20
Arg.	17	6	22	44	0	0	31

La comparaison des spectres d'acides aminés exprime nettement un aspect des transformations qui affectent le métabolisme de l'épithélium palléal au moment de la transition prisme/nacre. Ces phénomènes peuvent être décelés également par des indications portant sur le taux de soufre, un élément chimique lié à la phase organique des biocristaux.

Plusieurs études ont attiré l'attention sur la présence, dans les structures squelettiques carbonatées (outre la phase protéique des biocristaux), d'une autre famille de composés organiques : les polysaccharidés sulfatés. Les résultats obtenus au Japon sur la *Pinna attenuata* Reeve 1858 (Wada, 1980), ont nettement démontré la liaison entre la nucléation des éléments carbonatés et la présence du soufre.

Les recherches conduites à Orsay sur le taux de soufre présent dans les prismes des *Pinna nobilis* de Port-Cros confirment l'intérêt de cette observation. La mesure de la concentration de cet élément par spectroscopie d'émission X permet de constater des taux de 0,40 % de soufre, soit beaucoup plus que la concentration qui résulte de la présence des seuls aminés sulfurés.

Les mesures effectuées en section longitudinale des prismes et leur prolongement dans la structure nacrée permettent d'établir la chute du taux global de soufre lorsque la minéralisation aragonitique se développe (fig. 17). On ne décelé alors plus que 500 ppm environ de cet élément.



Un autre phénomène est également bien décelable, allant tout à fait dans le sens d'une évolution progressive des processus de minéralisation. Il semble en effet que la chute très nette du taux de soufre au moment du passage à la nacre soit précédée par une lente décroissance de sa concentration au cours du développement des prismes eux-mêmes. On peut ainsi suggérer que le basculement calcite/aragonite constitue le passage d'un seuil préparé par une phase de vieillissement des structures sécrétoires de l'épithélium palléal.

4. — CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

Les observations présentées ci-dessus montrent que les recherches conduites sur les *Pinna nobilis* peuvent déboucher sur des perspectives d'application rapprochées, même si leur motivation est fondamentalement théorique. En effet, cette voie de recherche qui permet de *conserver un contrôle structural des objets étudiés* et autorise donc une localisation très précise des éléments détectés, permet d'envisager un double développement.

Utilisation des biocristaux comme matériel d'enregistrement des paramètres écologiques

Pour l'étude des milieux marins actuels, on peut envisager qu'une analyse localisée du matériel mis en place dans les biocristaux du test, au cours des cycles de croissance successifs, permette de détecter les changements (naturels ou accidentels) intervenus dans le milieu de vie de l'animal durant son existence. Chaque cristal constitue ainsi une archive des éléments chimiques qui auront pu être incorporés durant sa croissance.

Cette perspective trouve un point d'application particulièrement favorable avec les prismes des *Pinna nobilis*, dont les caractéristiques microstructurales se prêtent quasi idéalement à une reconstitution chronologique des événements survenus pendant leur développement.

Mise au point d'une méthode d'analyse ultrastructurale

Les résultats immédiats du travail entrepris à partir des *Pinna nobilis* du Parc national concernent notre représentation des phénomènes de minéralisation chez les Lamellibranches.

— Les transformations minéralogiques et microstructurales réalisées lors du passage prismes (calcitiques) à nacre (aragonitique), constituent un phénomène complexe dont le déroulement, portant à la fois sur les aspects biochimiques, et sur les aspects ultrastructuraux de la phase minérale, ne peut être connu comme un basculement instantané de tous les facteurs impliqués dans cette transition. Il s'agit au contraire de processus pouvant se dérouler sur des durées parfois très longues (cas des *Pinna*), et sur lesquels le suivi de certains éléments chimiques (ici le soufre) peut apporter des indications.

— En ce qui concerne les mécanismes biochimiques impliqués dans la production des biocristaux calcitiques et aragonitiques par l'épithélium palléa, les caractéristiques structurales des deux types de matériaux organiques impliqués dans la mise en place des deux phases minérales successives fourniront des indications très intéressantes sur le déterminisme minéralogique des formes du calcaire chez les êtres vivants. Nous avons mis en évidence par ailleurs (CUIF *et al.*, 1983 *b*) les diverses implications de ce type de recherche, qui concerne également les paléontologistes et les géologues.

D'un point de vue pratique, en effet, la connaissance de ces biocristaux est le préalable nécessaire pour l'analyse des processus diagénétiques qui les affectent dans les sédiments. On sait que l'interprétation phylogénétique de plusieurs groupes fossiles est directement

dépendante des idées sur l'origine primaire ou diagénétique de leur squelette. En ce sens les recherches conduites sur les prismes de *Pinna* contribuent donc à la mise au point d'une méthode d'investigation susceptible d'une application très générale.

— Sur un plan plus théorique, mais essentiel pour notre représentation des phénomènes évolutifs, le changement d'échelle introduit dans l'analyse de ces phénomènes de biominéralisation renouvelle les bases de la classification des biocristaux. Il devient évident en effet, qu'on ne peut continuer de regrouper dans des catégories à bases morphologiques des biocristaux dont l'ultrastructure et la composition biochimique témoignent de condition de genèse très distinctes. La forme géométrique, qui a constitué l'élément déterminant dans la définition des catégories classiques (prismes, foliées, irrégulières, etc.) ne représente qu'un aspect global de la constitution des biocristaux, résultant de processus évolutifs entre lesquels des convergences peuvent exister. Dans plusieurs embranchements d'invertébrés, les interprétations concernant les rapports entre les formes actuelles et leurs prédécesseurs plus ou moins anciens peuvent se trouver affectées par l'évolution des idées sur cette question.

REMERCIEMENTS

Mme A. RAGUIDEAU et M. L. JAILLARD, membres du laboratoire ayant effectué les missions au cours desquelles les matériels étudiés ici ont été recueillis, tiennent à exprimer leurs remerciements aux personnels du Parc national, à l'équipe du Professeur N. VICENTE (Université de Marseille), et plus particulièrement à J.-C. MORETEAU qui a effectué les prélèvements en plongée.

BIBLIOGRAPHIE

- BRICTEUX-GREGOIRE S., FLORKIN M., GREGOIRE C., 1968. — Prism concholin of modern or fossil molluscan shells. An example of protein paleization. *Comp. Biochem. Physiol.*, U.K. 24 : 267-272.
- CUIF J.P., DAUPHIN Y., DENIS A., GASPARD D., KELLER J.P., 1980. — Continuité et périodicité du réseau organique intraprismatique dans le test de *Pinna muricata* L. (Lamellibranches). *C.R. hebd. Séances Acad. Sci. Paris, Fr.*, 290, sér. D : 759-762.
- CUIF J.P. et RAGUIDEAU A., 1982. — Observations sur l'origine de l'individualité cristallographique des prismes de *Pinna nobilis* L., *C.R. hebd. Séances Acad. Sci. Paris, Fr.*, 295, sér. II : 415-418.
- CUIF J.P., DENIS A. et RAGUIDEAU A., 1983 a. — Observations sur les modalités de mise en place de la couche prismatique du test de *Pinna nobilis* L. par l'étude des caractéristiques de la phase minérale. *Haliotis, Fr.*, 13 : 131-141.
- CUIF J.P., DAUPHIN Y., DENIS A., GASPARD D., KELLER J.P., 1983 b. — Etude des caractéristiques de la phase minérale dans les structures prismatiques du test de quelques Mollusques. *Mull. Mus. nat. Hist. nat. Paris, Fr.*, 4^e série, 5, sect. A (3) : 679-717.

- FREROTTE B., RAGUIDEAU A., CUIF J.P., 1983. — Dégradation *in vitro* d'un test carbonaté d'invertébrés, *Crassostrea gigas* (Thunberg), par action de cultures bactériennes. Intérêt pour l'analyse ultrastructurale. *C.R. hebd. Acad. Sci. Paris, Fr.*, 297, sér. II : 383-388.
- MUTVEI H., 1970. — Ultrastructure of the mineral and organic components of molluscan nacreous layers. *Biom mineralization*, Germ., 2 : 48-61.
- MUTVEI H., 1977. — The nacreous layer in *Mytilus*, *Nucula* and *Unio* (Bivalvia). Crystalline composition and nucleation of nacreous tablets. *Calcif. Tissue Res.*, Germ. 24 : 11-18.
- MUTVEI H., 1979. — On the internal structures of the nacreous tablets in molluscan shells. Scanning Electron Microscopy Inc., A.M.F. O'Hare, Ill., U.S.A., II : 457-462.
- MUTVEI H., 1980. — The nacreous layer in Molluscan shells. Proceedings of the third international Biom mineralization symposium : The Mechanisms of Biomineralization in Animals and Plants. Omori and Watabe Ed., Tokay Univ. Press., Jap. : 49-56.
- NAKAHARA J., KAKEI M., BEVELANDER G., 1980. — Fine structure and Amino acid composition of the organic « envelope » in the prismatic layer of some Bivalves shells. *Venus, Jpn. J. Malacol.*, 39 (3) : 167-177.
- TRAVIS D.F., FRANCOIS C.J., BONAR L.C., GLIMCHER M.J., 1967. — Comparative studies of the organic matrices of Invertebrates mineralized tissues. *J. Ultrastructure Res.*, U.S.A., 18 : 519-550.
- WADA K., 1980. — Initiation of mineralization in Bivalve Mollusc. Proceedings of the third international Biom mineralization symposium : The Mechanisms of Biomineralization in Animals and Plants. Omori and Watabe Ed., Tokay Univ. Press., Jap., : 79-92.
- WEINER S., TRAUB W., LOWENSTAM H. A., 1983. — Organic matrix in calcified exoskeletons, *in* Biom mineralization and Biological Metal Accumulation, Westbrook et De Jong Ed., Reidel Publishing Comp., The Netherlands, 205-224.

Accepté le 27 février 1986

LEGENDES DES FIGURES

Fig. 1. — Aspect de la surface de croissance des prismes de *Pinna nobilis*. Les crêtes, sensiblement parallèles entre elles, constituent l'aboutissement d'un système de plans internes, structurant chaque prisme (cf. fig. 2, 3 et 4). Barre : 50 μ m.

Fig. 2. — Prismes de *P. nobilis* après séjour dans une culture bactérienne. Les crêtes observables sur les faces latérales montrent une inclinaison constante dans chaque prisme par rapport à ses limites géométriques, et conservent cette position durant toute la croissance. Barre : 25 μ m.

Fig. 3 et 4. — Sections longitudinales polies et traitées (Acide acétique, Glutaraldéhyde et Bleu Alcyan). On retrouve la disposition en plans parallèles d'orientation constante dans chaque prisme (3) — Barre : 25 μ m, dont l'observation détaillée (4) montre qu'ils sont formés par un réseau organique très régulièrement disposé à travers les cycles de croissance successifs. Barre : 1 μ m.

Fig. 5. — Observation de la limite prisme (moitié inférieure droite du cliché) et nacre à l'intérieur d'une valve de *Pinna nobilis*. Barre : 50 μm .

Fig. 6. — Même secteur : notez le caractère irrégulier du front de progression de la couche organique qui recouvre la surface des prismes. Barre : 25 μm .

Fig. 7. — Aspect de la zone intermédiaire en coupe transversale. La moitié supérieure du cliché est occupée par la vue de la région distale des prismes, la base par la nacre. La couche intermédiaire apparaît compacte et homogène. Barre : 50 μm .

Fig. 8. — Les éléments organiques qui fusionnent pour former la couche intermédiaire ont un aspect polygonal, rappelant celui des cristaux de nacre habituel (type *Pinctada* par exemple), mais s'avèrent en fait très différents des cristaux qui vont se former par la suite. Barre : 12,5 μm .

Fig. 9. — Aspect d'un des éléments de la couche intermédiaire : organisation polygonale et croissance concentrique conduisant à leur fusion latérale sont nettement visibles. Barre : 2,5 μm .

Fig. 10. — Morphologie des éléments de la couche nacrée chez *Pinna nobilis* L. Aspect rectangulaire très nettement caractérisé. Barre : 25 μm .

Fig. 11 et 12. — Après traitement protéolytique, l'enveloppe des cristaux de nacre est partiellement dégradée. L'organisation interne en microcristaux aciculaires est nettement visible dans les deux secteurs triangulaires opposés formant les largeurs des rectangles. Barre : 2,5 μm .

Fig. 13 et 14. — Ces secteurs correspondent en fait à des zones déjà différenciées à la surface des enveloppes externes des cristaux (fig. 13 : barre : 5 μm), zones qui servent de point de développement préférentiel pour la formation des nouveaux cristaux (fig. 14 : barre : 2,5 μm).

Fig. 15 et 16. — Ces cristaux juvéniles sont particulièrement sensibles à l'action protéolytique des enzymes, et montrent nettement leur organisation composite en microcristaux perpendiculaires à la surface de croissance de la couche nacrée. Barres : fig. 15 : 2,5 μm et fig. 16 : 1 μm .

Fig. 17. — Comparaison des taux de sodium, magnésium, soufre et strontium dans les prismes et la nacre de *Pinna nobilis* (valeurs données en p.p.m.). La chute du soufre au moment de l'installation de la minéralisation aragonitique, révèle un aspect des transformations intervenant au niveau de la phase organique dans les deux types successifs de biocristaux. Les autres éléments présentés ici sont en effet liés à la phase minérale elle-même, au moins dans leur majeure partie.

