

FORMATION DE CHAMBRES DANS LA COQUILLE DE L'HUÎTRE PLATE *OSTREA EDULIS* L. CULTIVÉE DANS LES RIAS DE GALICE

Carmen RODRIGUEZ R. et Francisco LOPEZ C.

Laboratorio de Tecnologia Perquera

Universit  de Saint Jacques de Compostelle, Espagne

Resumen

FORMACION DE CAMARAS EN LAS CONCHAS DE LAS OSTRAS *OSTREA EDULIS* L. CULTIVADAS EN LAS RIAS DE GALICIA.

La formacion de anomalias en la calcificacion de la concha en la ostra plana *Ostrea edulis*, no es un fenomeno reciente. Para su estudio se utilizó semilla de ostra precedente de Francia y Grecia, cultivada en la Ria de Arosa, Galicia (Espana), mediante el sistema de parque flotante o « batea », muy difundido en las rias gallegas. El c culo de los distintos Indices de condición, nos demuestra que la formacion de « camaras » provoca un incremento en el grado de concavidad de la concha y no afecta al rendimiento en carne de la ostra. Los estudios de cristalización del carbonato cálcico en las capas calcáreas que forman las cámaras, ponen en evidencia, como único tipo de cristal, a la « calcita » y la existencia de un desorden y desorientación en el crecimiento de los cristales.

Abstract

CHAMBER FORMATIONS INTO SHELL OYSTERS *OSTREA EDULIS* L. GROWING IN GALICIAN RIAS (SPAIN).

The formation of anomalies in the calcification of the shell in the flat oyster *Ostrea edulis*, is not a recent phenomenon. For their study we used spat of oyster from France and Greece cultured in the Arosa estuary, Galicia (Atlantic coast of Northwestern Spain), through the punt or floating park system very spread in the Galician estuary. The calculation of different indexes of condition show us that the formation of blisters increases the grade of the shell concavity and it does not affect the meat content of the oyster. The studies of crystallization in the calcareous layers that form the blisters, prove the « calcite », as the only type of crystal and the existence of disorder and disorientation in the growing of the crystals.

Résumé

La formation d'anomalies dans la calcification des coquilles d'huîtres plates *Ostrea edulis* n'est pas un phénomène récent. Pour leur étude nous avons utilisé de jeunes huîtres originaires de France et Gr ce, élevées dans la Ria de Arosa (Galice)   partir de radeaux flottants ou « bateas » très répandus dans cette région. Le calcul des indices de condition a démontré que la formation de chambres provoque un accroissement du degré de concavité de la coquille mais n'affecte pas le rendement en chair de l'huître. Les études de cristallisation du carbonate calcique dans les couches calcaires formant les chambres, démontrent que la calcite est le seul type cristallin et que la croissance des cristaux n'a plus d'orientation privilégiée.

Introduction.

La situation actuelle de l'ostréiculture en Galice (Espagne) pose d'importants problèmes, dus principalement à la quasi-inexistence de bancs naturels d'huître plate *Ostrea edulis*. En conséquence, la majeure partie des huîtres élevées dans les « rias » de Galice est importée, sous forme de naissain, principalement de France et de Grèce. Depuis de nombreuses années on connaît la capacité des huîtres à former des couches calcaires qui entourent et isolent dans la coquille des corps étrangers introduits entre ses valves (vers, larves, sable...). Toutefois, ce mécanisme de défense se distingue des processus de formation de chambres rencontrés dans les huîtres plates de Galice et pour lesquelles aucun corps étranger ne peut être mis en cause.

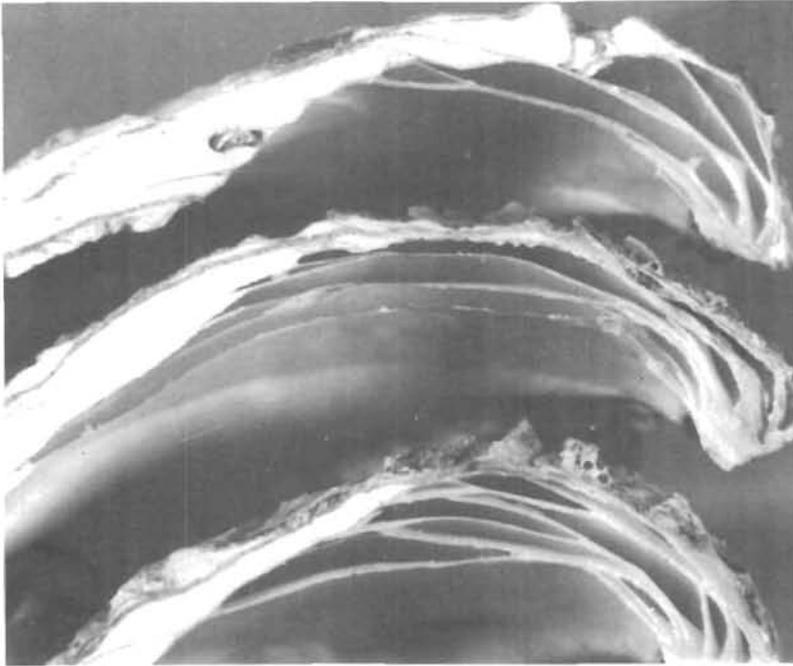


FIG 1. — Coupe de la valve inférieure de *O. edulis* avec chambre.
Section of lower valve of *O. edulis* with chamber.

Ce phénomène se caractérise par une superposition non uniforme de couches calcaires non jointives et qui entraînent la formation de chambres qui renferment fréquemment de l'anhydride sulfhydrique et de la boue. Ces chambres sont préférentiellement localisées sur la valve inférieure (ou gauche) et occupent toujours la surface correspondant à la masse viscérale, c'est-à-dire celle comprise entre la charnière et l'insertion du muscle adducteur (fig. 1). Ces manifestations ne sont pas d'observation récente, mais le faible pourcentage d'huîtres affectées n'a pas eu jusqu'à présent d'incidence économique. Cependant, compte tenu des difficultés rencontrées en France, dans un passé récent, dans la culture de *Crassostrea gigas* affectée par la formation de chambres gélatineuses, il nous a paru intéressant d'étudier la nature du phénomène constaté sur les huîtres plates de Galice.

Formation et anomalies des coquilles de mollusques.

La calcification de la coquille des mollusques, c'est-à-dire le dépôt de cristaux de carbonate de calcium dans une matrice organique de nature protéique, provient de la cristallisation du calcium extra-cellulaire. La minéralisation s'effectue au niveau du manteau qui recouvre la surface interne de croissance de la coquille et qui utilise le calcium dissous dans l'eau intervalvaire (Van DER BROGHT et Van PUymbroECK, 1966). La protéine qui forme la matrice organique contient une forte proportion des amino-acides suivants : alanine, acides glutamiques et aspartiques, glycine et sérine. A l'exclusion de l'alanine, ces amino-acides contribuent à la liaison de la matrice organique avec les ions calcium (KRAMPITZ, 1976).

Le dépôt d'une couche cristalline est lié à la disposition des groupes chimiques de la matrice. Le calcium et le carbonate liés initient la phase de formation du cristal (NEUMAN, 1958) ; sa croissance se ferait par addition d'ions sur un plan pré-établi par les autres ions, donnant ainsi une superposition de couches cristallines. Les axes cristallographiques sont orientés dans la direction d'allongement du manteau ce qui conduit à une orientation de la matrice où se forment les cristaux. Par croissance continue de la surface libre, les cristaux forment des colonnes composées de couches minérales et organiques alternées (WADA, 1961).

Le carbonate de calcium se trouve dans la coquille des mollusques sous trois formes cristallines : calcite, aragonite, vaterite, la coquille des huîtres étant principalement formée de calcite. De nombreux facteurs influent sur le type de cristallisation parmi lesquels figurent la matrice organique et les enzymes de la calcification.

Structure de la coquille.

Sur une coupe verticale de coquille on peut distinguer : le periostracum, couche externe de nature protéique ; la couche prismatique, de cristaux de calcite perpendiculaires ou obliques par rapport à la surface ; la couche nacrée, de cristallisation d'aragonite ; la couche foliée ou subnacrée ou calcitostracum de cristallisation de calcite dont les cristaux jointifs se recouvrent et s'orientent dans la même direction (WATABE et WILBUR, 1961) ; intégrés à cette couche se trouvent les dépôts calcaires qui constituent des taches blanches de texture molle et poreuse qui peuvent renfermer jusqu'à 6,5 % de NaCl : ces masses crayeuses, rapidement formées (RANSON, 1941) permettent d'adoucir la surface interne de la coquille (KORRINGA, 1951) et fournissent de meilleures propriétés hydrodynamiques en relation avec les courants provoqués par le manteau (KORRINGA, 1951) ; l'hypo-ostracum, couche fine déposée sur la couche subnacrée localisée sous le muscle adducteur.

Anomalies de calcification.

De nombreux auteurs ont étudié les chambres présentes dans les coquilles d'huîtres plates *Ostrea edulis*. D'après KORRINGA (1951), la forte salure des eaux et les périodes consécutives au frai entraînent une diminution de la masse corporelle qui est compensée par l'huître en diminuant le volume intervalvaire par sécrétion de couches calcaires formant des chambres. COOMBS (1972) a démontré que le zinc qui intervient dans la calcification en tant que composant de l'anhydrase carbonique et de la phosphatase alcaline peut occuper les sites du calcium dans le réseau cristallin.

L'huître *Crassostrea gigas* cultivée dans certaines zones françaises présentait, à partir de 1973, des malformations calciques appelées « chambrage » et dans les cas extrêmes « gaufrage ». Ce phénomène consistait en une hypersécrétion d'une substance gélatineuse qui était recouverte par une fine couche de calcite. La superposition des chambres gélatineuses donnait à l'huître une forme en « boulet » (HÉRAL, 1981) et correspondait à une croissance de la coquille plus rapide en épaisseur qu'en longueur. Les recherches entreprises démontrèrent que :

- la substance gélatineuse était constituée d'acides aminés identiques à ceux de la matrice organique à l'exception de ceux qui assurent la liaison avec les ions calcium (KRAMPITZ, comm. pers.) ;
- les bancs d'huîtres situés à proximité des ports de plaisance ou de zones de mouillage étaient les plus affectés par le phénomène ;
- en laboratoire, les huîtres élevées en présence de tributylétain (TBT), matière active des peintures marines destinées à la protection des coques contre les bio-salissures, produisaient les mêmes anomalies que celles rencontrées dans le milieu naturel (ALZIEU *et al.*, 1980-1982).

L'interdiction d'utilisation des dérivés organiques de l'étain dans les peintures marines antisalissures depuis 1982 a permis une amélioration sensible de la qualité des coquilles de *Crassostrea gigas* dans les secteurs qui auparavant étaient les plus atteints.

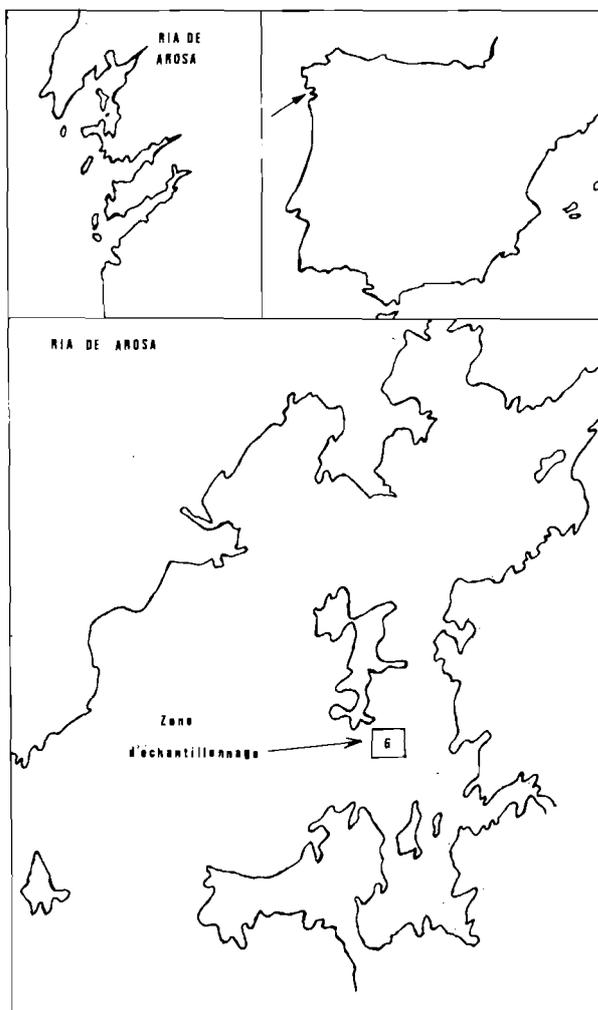


FIG. 2. — Localisation de la zone d'échantillonnage.
Localization of the sampling area.



FIG. 3. — Radeau d'élevage ou « batea » de la ria de Arosa.
Growing raft or « batea » from ria de Arosa.

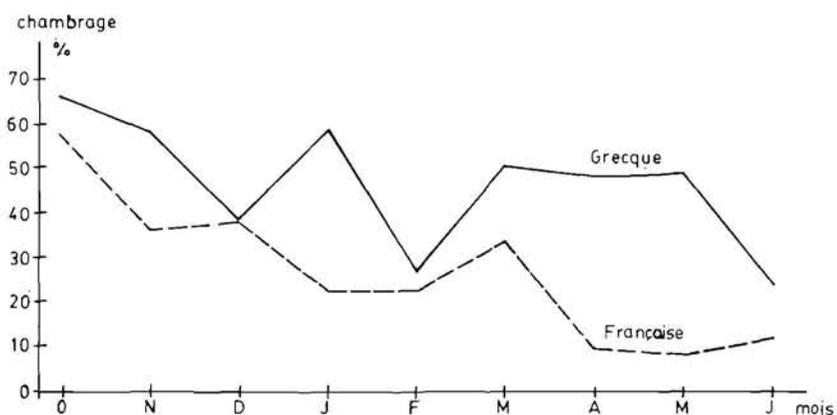


FIG. 4. — Evolution du pourcentage de chambres tout au long de l'année suivant l'origine des huîtres : françaises (.....) et grecques (——).
Yearly percentage chamber development according to oyster originen : French (.....) and Greek (——).

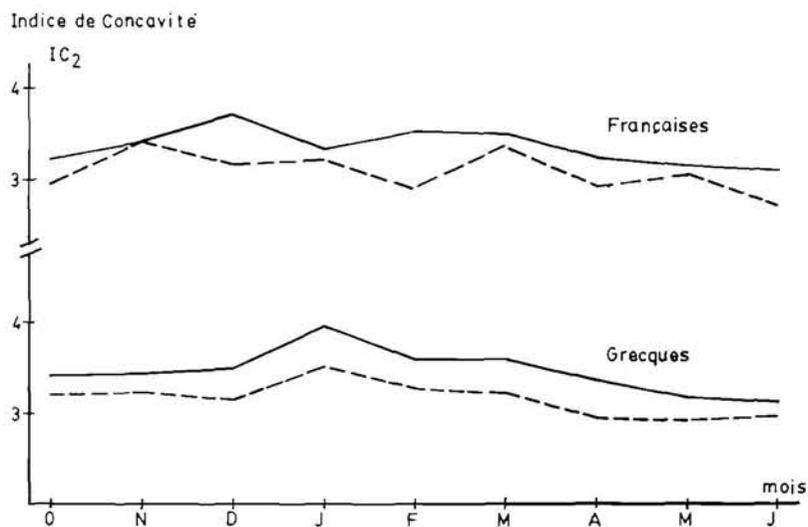
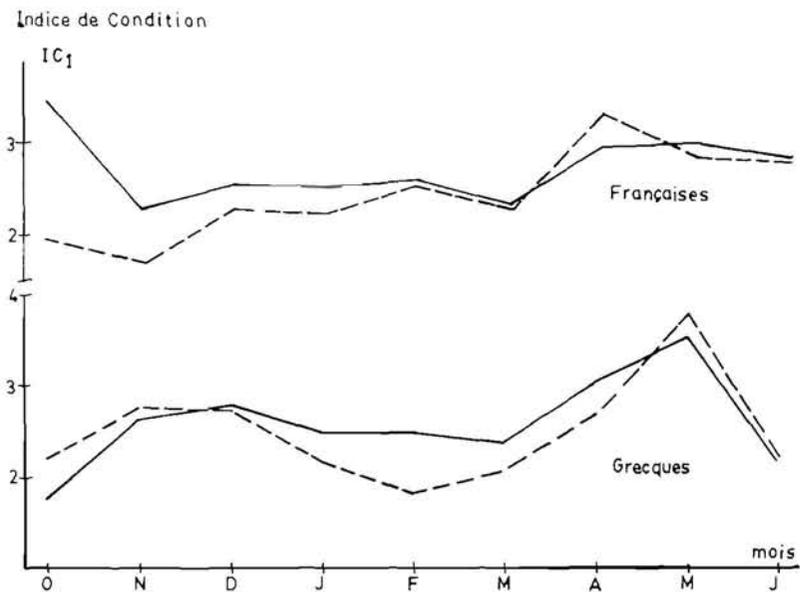


FIG. 5. — Evolution des indices IC_1 et IC_2 d'huîtres normales (——) et chambrées (.....) suivant leurs origines française et grecque.
 IC_1 and IC_2 index evolution for normal (——) and chambered oysters (.....) according to their French and Greek origin.

Méthodes.

Les échantillons, 500 individus d'huîtres plates dont le naissain provenait de France et Grèce, ont été prélevés dans les « bateas » du polygone G de la Ria de Arosa (fig. 2). Les huîtres examinées avaient séjourné au moins 10 mois dans les systèmes d'élevage en suspension typique de Galice et dénommés « bateas ». La figure 3 montre la superstructure de la « batea » à laquelle sont accrochées des cordes d'élevage où se trouvent les mollusques.

Par sa situation géographique privilégiée, la Ria de Arosa subit l'influence des remontées des eaux profondes de l'Atlantique nord qui en font un écosystème de productivité élevée directement utilisable pour une importante production aquacole. D'une longueur de 25 km avec des profondeurs moyennes de 20 m et soumise à de faibles courants, la ria, qui reçoit les eaux de deux rivières importantes, n'est soumise qu'à des apports polluants d'origine urbaine. La salinité moyenne des eaux varie entre 31 et 35 ‰ pour des températures moyennes relativement constantes de 12 à 15° C.

L'importance des effets de la formation des chambres dans la coquille a été appréciée en utilisant deux indices :

indice de condition du mollusque :

$$IC_1 = \frac{\text{Poids de chair sèche}}{\text{Poids total}} \times 100 \quad \text{selon ANDREU (1966)}$$

indice de la concavité de la coquille :

$$IC_2 = \frac{\text{Longueur de la coquille}}{\text{Epaisseur de la coquille}} \quad \text{selon ALZIEU *et al.* (1982)}$$

La détermination des teneurs en zinc dans les chairs a été effectuée par spectrophotométrie d'absorption atomique après dessiccation et minéralisation de la matière organique en milieu sulfonitrique concentré. La recherche du calcium, du magnésium, du fer, du zinc et du cuivre dans les coquilles a été réalisée à partir d'un gramme de coquille broyé et dissous dans un mélange HNO₃ et HCl.

Les microanalyses à la microsonde électronique ont été effectuées sur un échantillon de 1 cm de diamètre de la couche subnacrée prélevée dans la zone affectée par les chambres. Les analyses de cristallisation du carbonate de calcium sous forme de calcite ont été obtenues par diffraction aux rayons X sur un prélèvement situé entre la charnière et le muscle adducteur.

Les microphotographies de couche subnacrée de coquille normale et chambrée ont été obtenues par microscopie électronique à balayage.

Résultats et interprétation.

Pourcentage d'huîtres chambrées.

La figure 4 montre l'évolution, au cours du temps, du pourcentage d'huîtres chambrées qui apparaît plus élevé pour les huîtres d'origine grecque que pour celles provenant de France. Pour ces dernières on peut constater une tendance à la diminution des pourcentages d'individus affectés en période printanière et estivale. Ceci tendrait à confirmer l'hypothèse de KORRINGA (1951) selon laquelle la formation de chambres serait un mécanisme normal de régulation du volume de la cavité palléale en période de forte salinité ou post-reproduction.

Indices.

L'évolution des indices de condition (IC₁) reportés sur la figure 5 ne mettent pas en évidence de différences significatives entre huîtres normales et chambrées. Ceci tend à indiquer que la présence de chambres n'affecte pas la proportion de chairs. En ce qui concerne les indices de concavité IC₂, la figure 5 montre que les valeurs sont systématiquement inférieures pour les huîtres chambrées quelle que soit leur origine. Ceci signifie que la présence de chambres augmente le degré de concavité de la coquille. Cet indice permet d'identifier, sans ouverture de l'huître, les individus présentant des formations de chambres.

Teneurs en zinc des chairs.

Considérant que le zinc joue un rôle important en tant qu'élément métallique de deux enzymes impliqués dans les processus de calcification (anhydrase carbonique et phosphatase alcaline) et comme compéti-

teur du calcium dans les membranes cellulaires, nous avons recherché s'il existait des différences dans les niveaux de présence du zinc dans les chairs suivant que les coquilles étaient normales ou chambrées. Le tableau 1 montre que les teneurs moyennes ainsi que les intervalles de variation sont significativement plus élevés chez les huîtres chambrées que chez les huîtres normales. L'augmentation relative des teneurs est de l'ordre de 8,2 % et 13,8 % respectivement pour les huîtres de provenance française et grecque. Des études complémentaires seraient nécessaires pour préciser le rôle exact du zinc dans la formation de chambres chez l'huître plate.

COQUILLES	ORIGINE FRANÇAISE			ORIGINE GRECQUE		
	min. - max.	moyenne	E %	min. - max.	moyenne	E %
normales	720 - 740	734	0,98	684 - 716	705	2,13
chambrées	784 - 804	794	1,12	800 - 804	803	0,2

TABL. 1. — Teneurs en zinc exprimées en $\mu\text{g/g}$ de poids sec dans les chairs d'huîtres normales et chambrées (E % : erreur relative moyenne).

Zinc content as $\mu\text{g/g}$ dry weight in tissues from normal and chambered oysters (E % : median relative error).

Composition chimique de la coquille.

Les résultats des analyses du calcium, du magnésium, du zinc, du cuivre et du fer, effectuées sur les coquilles prélevées au mois de février, reportés dans le tableau 2 indiquent des différences significatives en ce qui concerne le zinc, le cuivre et le fer. Les teneurs en calcium et magnésium sont par ailleurs comparables.

De plus, les résultats des analyses à la microsonde électronique montrent que la couche subnacrée des coquilles chambrées renferme des éléments tels que chlore, sodium, magnésium, soufre, aluminium

	Ca	Mg	Zn	Cu	Fer
Coquille normale	366	3,3	40	22	360
Coquille chambrée	355,5	3,2	24,5	12,7	590

TABL. 2. — Teneurs moyennes comparées en calcium, magnésium (mg/g poids sec) et zinc, cuivre, fer (mg/kg de poids sec) dans les coquilles normales et chambrées.

Calcium, magnesium (mg/g dry weight) and zinc, copper, iron (mg/g dry weight) median levels compared in normal and chambered shells.

Echantillons	Ca	Si	Cl	Na	Mg	S	Al	Fe	O
Coquilles normales	68,87	1,70	—	—	—	—	—	—	29,43
	69,42	1,34	—	—	—	—	—	—	29,24
Coquilles chambrées	62,89	3,87	—	—	0,15	—	1,74	0,15	31,20
	31,67	—	14,64	30,45	—	—	—	—	23,24
	67,45	—	2,43	—	1,92	—	—	—	28,19
	70,84	—	—	—	—	0,35	—	—	28,81
	70,46	—	—	—	0,85	—	—	—	28,69
	70,56	—	—	—	—	—	0,51	—	28,93

TABL. 3. — Composition élémentaire (% du poids total) de la surface de la couche subnacrée analysée à la microsonde électronique.

Elementary composition (% of total weight) of subnacrean surface layer analysed by electronical microzonde.

et fer qui n'existent pas dans les coquilles normales (tabl. 3). En ce qui concerne les fortes proportions de chlore et de sodium on peut considérer qu'elles proviennent d'inclusions salines : KORRINGA (1951) a démontré que les structures calcaires pourraient contenir jusqu'à 6,5 % de sel. La présence des autres éléments est difficile à expliquer ; cependant on considère que de manière générale, lors de la calcification, les cellules du manteau peuvent incorporer dans la matrice organique et les substances pigmentaires des éléments inorganiques considérés comme détrit.

Microstructure des coquilles.

Les analyses de structure cristalline par diffraction aux rayons X (fig. 6) ont montré que la calcite était la forme de cristallisation commune aux huîtres normales et chambrées. De même, des analyses similaires réalisées sur des coquilles d'huîtres *Crassostrea gigas* normales et présentant des chambres gélatineuses ont donné des résultats identiques. Ceci démontre qu'il n'existe pas d'altération de la maille cristalline du carbonate de calcium au moment de la formation des chambres, comme cela a pu être observé par WILBUR *et al.* (1964) lors de processus de régénération de la coquille.

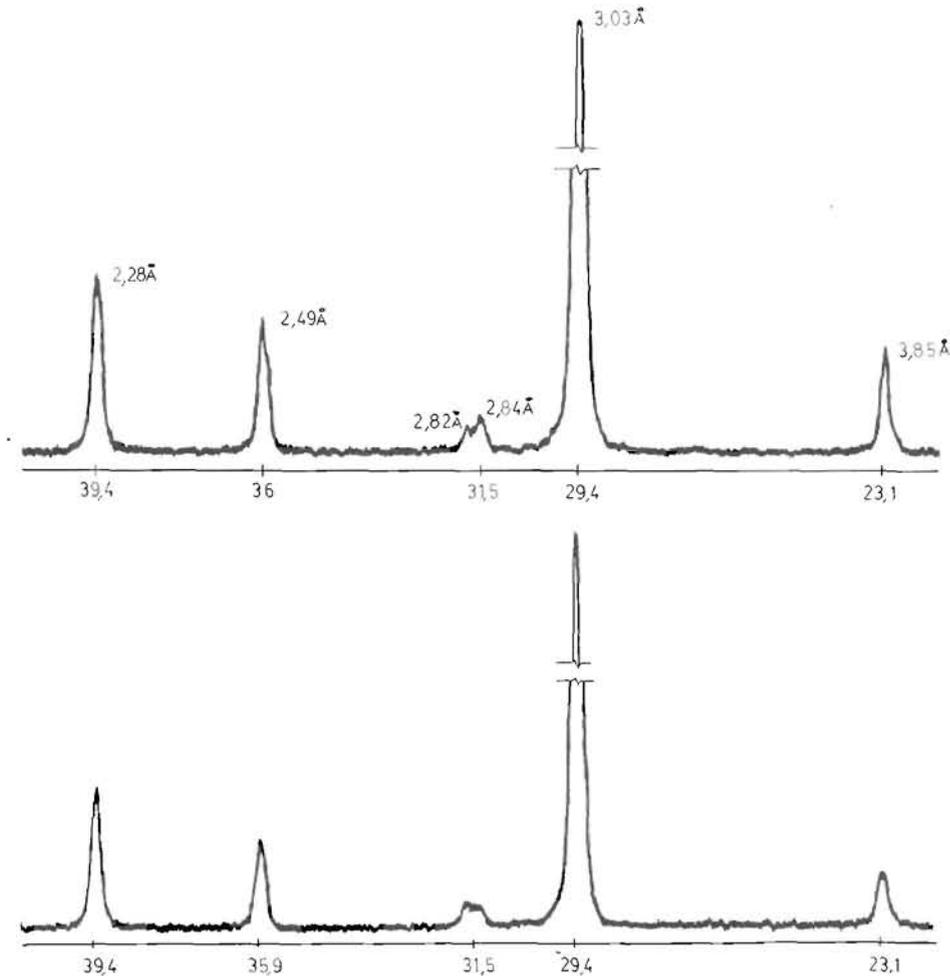


FIG. 6. — Analyse de la forme cristalline du carbonate de calcium de la coquille en « calcite » : huître normale (en haut) et chambrée (en bas).

Analysis of the cristal form of calcium carbonate in calcite shell : normal (above) and chamber (below) oysters.

Les microphotographies de la figure 7 correspondent à des échantillons prélevés entre le muscle adducteur et la charnière. Les figures 7 a et b représentent des grossissements des structures cristallines de la couche subnacrée de coquilles normales, dont les différentes couches apparaissent superposées et orientées dans la même direction. Ce type de disposition a également été observé par WILBUR (1961). Les figures

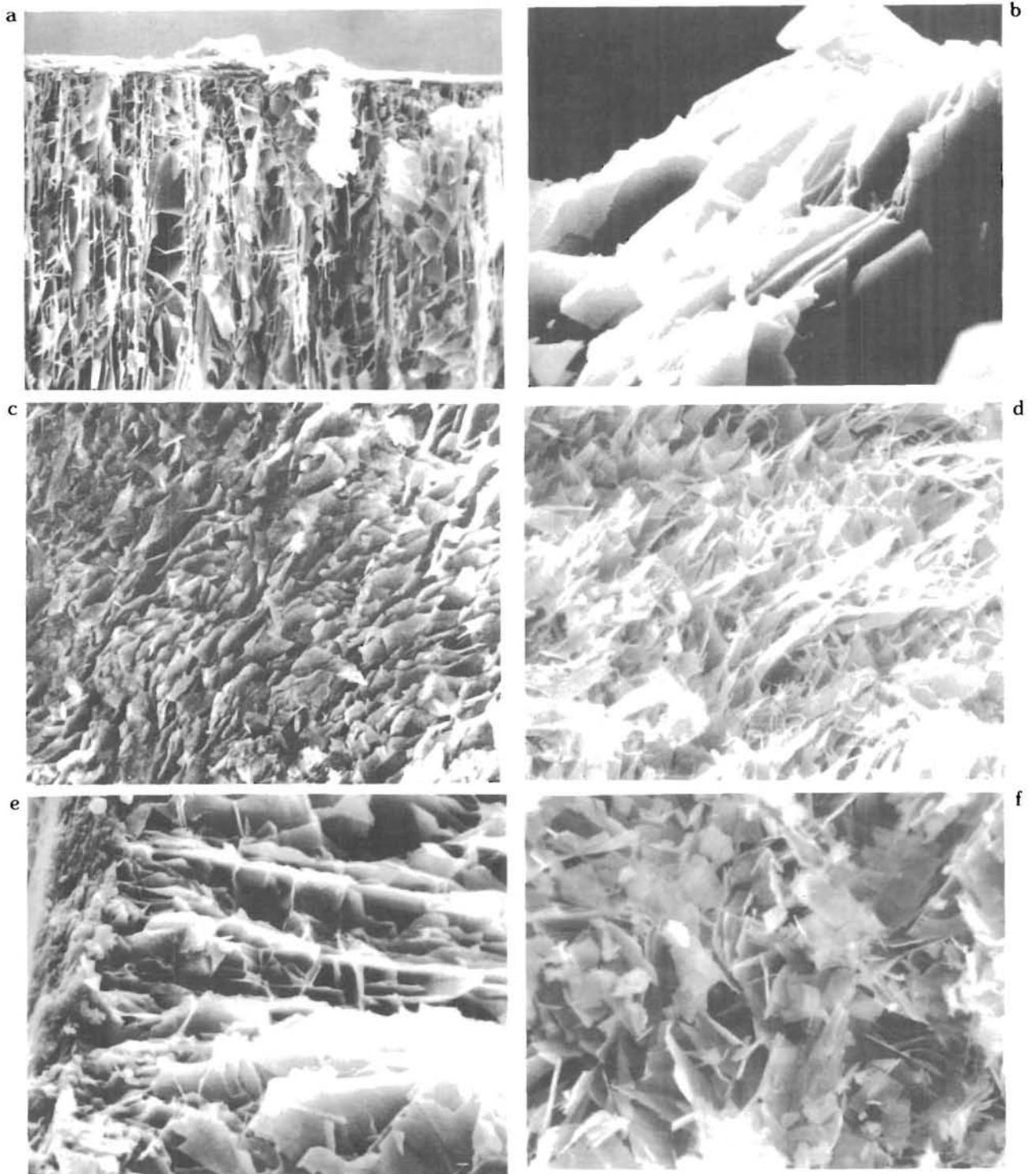


FIG. 7. — Microstructure de coquilles d'huîtres *Ostrea edulis* :
 a) coupe transversale de la couche subnacréée d'une coquille normale ($\times 500$) ; b) coupe transversale de la surface de la couche subnacréée de coquille normale ($\times 5\ 000$) ; c) surface de la couche subnacréée de coquille normale ($\times 1\ 000$) ; d) surface des couches subnacréées formant des chambres ($\times 1\ 000$) ; e) coupe transversale de la zone calcaire de la couche subnacréée de coquille normale ($\times 1\ 500$) ; f) zone calcaire de la couche subnacréée de coquille chamberée ($\times 1\ 000$).

Microstructure of oyster shells *Ostrea edulis* :
 a) cross section of subnacreous layer of normal shell ($\times 500$) ; b) cross section of the surface of subnacreous layer of normal shell ($\times 5\ 000$) ; c) surface of subnacreous layer of normal shell ($\times 1\ 000$) ; d) surface of subnacreous layers forming chambers ($\times 1\ 000$) ; e) cross section of chalk-zone of subnacreous layer of normal shell ($\times 1\ 500$) ; f) chalk zone of subnacreous layer from chambered shells ($\times 1\ 000$).

7 c et d permettent de constater l'aspect désorganisé des structures cristallines de la surface des couches subnacrées de coquilles chambrées (d) comparé aux structures normales (c). De même pour la zone calcaire de la couche subnacrée de la coquille, la disposition des cristaux des coquilles chambrées (f) ne correspond pas à la structure en forme de tuile observée sur une coquille normale (e).

Conclusions.

Nos résultats démontrent que la formation de ce type de chambres dans la coquille de l'huître plate *Ostrea edulis* est toujours localisée entre la charnière et le muscle adducteur de la valve inférieure ou gauche ; elles ont été observées pendant toute la période d'échantillonnage c'est-à-dire d'octobre à juin. Les huîtres dont le naissain provenait de Grèce présentaient un taux de malformation supérieur aux huîtres d'origine française, ces dernières étant moins affectées en période printanière et estivale.

L'étude des indices de condition indique que la présence de chambres dans la coquille n'affecte pas la proportion de chairs ; toutefois les huîtres chambrées sont caractérisées par une augmentation de la cavité de la valve inférieure. L'examen des structures cristallines a démontré que les perturbations n'étaient pas liées au type de cristallisation du carbonate de calcium mais plutôt à l'absence d'orientation ordonnée selon un même plan des différentes couches de calcite.

Bien que la morphologie des chambres rencontrées chez les huîtres plates de la Ria de Arosa et chez l'huître du Pacifique *Crassostrea gigas* en France soient comparables, des différences fondamentales existent entre les deux phénomènes telles que :

- localisation des chambres ; elles occupent l'ensemble de la cavité palléale chez *C. gigas* et seulement une partie délimitée chez *O. edulis* ;
- contenu des chambres : substance gélatineuse d'origine protéique chez *C. gigas* et eau, acide sulfhydrique et boue chez *O. edulis* ;
- période de l'année à laquelle peut être observé le phénomène : périodes de croissance calcique chez *C. gigas*.

Ces différences, ainsi que les résultats obtenus par ALZIEU *et al.*, 1982, démontrant que la contamination des eaux par les dérivés organostanniques (TBT) présents dans les peintures antisalissures était responsable des malformations calciques de *C. gigas*, nous permettent de penser que les origines du phénomène observé dans la Ria de Arosa sont distinctes de celles qui ont été prouvées pour *C. gigas*. Des études complémentaires sur la répartition du phénomène et les mécanismes biochimiques de la calcification sont désormais nécessaires pour déterminer les causes des malformations calciques de *O. edulis* cultivée dans les rias de Galice.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier M. Cl. ALZIEU (IFREMER-Nantes) ainsi que M. K. GUITIAN (Edaphologie) et Mme P. BERMEJO (Chimie Analytique) de l'Université de Saint-Jacques-de-Compostelle, pour leur contribution à ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ALZIEU (Cl.), THIBAUD (Y.), HÉRAL (M.) et BOUTIER (B.), 1980 (1981). — Evaluation des risques dus à l'emploi des peintures antisalissures dans les zones conchylicoles. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **44** (4) : 301-348.
- ALZIEU (Cl.), HÉRAL (M.), THIBAUD (Y.), DARDIGNAC (M.-J.) et FEUILLET (M.), 1981 (1982). — Influence des peintures antisalissures à base d'organostanniques sur la calcification de la coquille de l'huître *C. gigas*. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **45** (2) : 101-116.
- COOMBS (T.L.), 1972. — The distribution of Zinc in the oyster *Ostrea edulis* and its relation to enzymatic activity and to other metals. — *Mar. Biol.*, **12** : 170-178.
- HÉRAL (M.), BERTHOMÉ (J.-P.), POLANCO-TORRÈS (E.), ALZIEU (Cl.), DESLOUS-PAOLI (J.-M.), RAZET (D.) et GARNIER (J.), 1981. — Anomalies de croissance de la coquille de *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron. Bilan de trois années d'observation. — C.I.E.M., CM. 1981/K : 31.

- KORRINGA (P.), 1951. — On the nature and function of « chalky » deposits in the shell of *Ostrea edulis* L. — *Proc. Calif. Acad. Sci.*, **27** (5) : 133-158.
- KRAMPITZ (G.), ENGELS (J.) et CAZAUX (C.), 1976. — Biochemical studies on water-soluble proteins and related components of gastropods shells. — *In* The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants. Watabe (N.) et Wilbur (K.M.) Dir. Columbia : University of South Carolina Press Edit : 155-173.
- NEUMAN (W.F.) et NEUMAN (M.W.), 1958. — The chemical dynamics of Bone Mineral. — Univ. of Chicago Press Edit., Chicago Illinois : 209 p.
- RANSON (G.), 1941. — Les huîtres et le calcaire. I. Formation et structures des « chambres crayeuses ». — *Bull. Mus. nat. Hist. nat.*, **12**, 13 (49-66) : 426-432.
- VAN DER BORGH (O.) et VAN PUymbROECK (S.), 1966. — Calcium metabolism in a freshwater mollusc : Quantitative importance of water and food as supply for calcium during growth. — *Nature*, **210** : 791-793.
- WADA (K.), 1961. — Crystal growth of molluscan shells. — *Bull. Natl. Pearl. Research. Lab.*, **7** : 703-828.
- WATABE (N.) et WILBUR (K.M.), 1961. — Studies on shell formation. IX an electron microscope study of crystal layer formation in the oyster. — *J. Biophysic and Biochem. Citol.*, **9** : 761-771.
- WILBUR (K.M.), 1964. — Shell formation and regeneration. — *Physiology of Mollusca*, Edit. Acad. Press (New York and London), Vol. I : 243-282.

Manuscrit soumis le 12 décembre 1984, accepté le 26 avril 1985.