

LES RELATIONS TROPHIQUES ANSE INTESTINALE-GONADE CHEZ *PECTEN MAXIMUS* (MOLLUSQUE BIVALVE)

LE PENNEC M., DORANGE G., BENINGER P., DONVAL A. et WIDOWATI I.

*Laboratoire de Biologie Marine, Université de Bretagne Occidentale, Faculté des Sciences - 29287
BREST Cédex*

RESUME : Des études histologiques, histochimiques et ultrastructurales ont été réalisées, chez *Pecten maximus*, sur la portion du tractus digestif qui traverse la gonade. Les résultats obtenus permettent d'envisager une fonction d'absorption et de digestion de métabolites par les cellules épithéliales de l'anse intestinale et un transfert de substances nutritives vers le tissu gonadique environnant. Divers mécanismes de translocation sont possibles, notamment par l'hémolymphe, mais aussi par l'intermédiaire de "cellules vacuolaires" du tissu conjonctif interstitiel gonadique.

Mots clés : métabolites, transfert, intestin, gonade, *Pecten maximus*

TROPHIC RELATIONSHIPS GONAD-INTESTINAL LOOP IN *PECTEN MAXIMUS*

ABSTRACT : *Histological, histochemical and ultrastructural studies were performed on the region of the gonad traversed by the intestine in Pecten maximus. The results indicate a digestive and absorptive function of intestine epithelial cells and a transfer of metabolites to the surrounding gonad tissue. Several possible mechanisms of translocation are presented, including diffusion into the haemolymph and transfer via vacuolated cells of the gonad interstitial connective tissue.*

Keywords : nutriments, transfert, intestine, gonad, *Pecten maximus*

INTRODUCTION

L'anatomie et la fonction du tractus digestif des Pectinidae sont identiques à celles des autres bivalves (Purchon, 1977 ; Beninger et Le Pennec, 1991). Cependant, il existe quelques caractéristiques propres à certaines espèces comme *Placopecten magellanicus* et *Pecten maximus* chez lesquelles une portion du tractus digestif décrit une large boucle dans la gonade. Connue sous le nom d'anse intestinale ("intestinal loop" des auteurs anglo-saxons), elle comprend une "partie descendante" faisant suite à l'estomac et une "partie ascendante" qui longe le rein avant d'atteindre le péricarde.

De nombreux travaux ont été consacrés à l'anatomie et à la physiologie du tractus digestif des Pectinidae ; par exemple ceux de Purchon (1957) concernent l'estomac ; Purchon (1957, 1977), Wojtowicz (1972) et Mathers (1976) la glande digestive ; Wojtowicz (1972), Mathers (1976), Purchon (1977) et Judd (1987) le stylet cristallin et Beninger *et al.* (1990a, b), les palpes labiaux. Cependant, peu d'études traitent des caractéristiques cytologiques de l'intestin, la plus complète étant vraisemblablement celle d'Usheva (1983) sur *Patinopecten yessoensis*.

Récemment, Le Pennec *et al.* (1991) ont émis l'hypothèse de liens physiologiques étroits chez *Pecten maximus* entre l'anse intestinale et le tissu gonadique environnant et envisagé le passage de métabolites vers la gonade. Les recherches que nous avons entreprises chez cette espèce ont pour objectif de mieux connaître la cytologie et la cytochimie de la paroi intestinale, celles des autres tissus de la gonade étant déjà connues (Dorange, 1989 ; Dorange et Le Pennec, 1989), afin de disposer d'éléments supplémentaires permettant d'étayer l'hypothèse des relations trophiques anse intestinale-gonade.

MATERIEL ET METHODES

Des fragments de gonade de coquille St-Jacques ont été prélevés à plusieurs niveaux et fixés au liquide de Bouin pour une étude histologique classique de la portion du tractus digestif qui la traverse. D'autres échantillons ont été rapidement congelés dans de l'isopentane refroidi par de l'azote liquide puis maintenus pendant une heure environ à -25°C dans l'enceinte d'un cryotome et débités en coupes de 10 µm d'épaisseur en vue d'une étude histochimique et histoenzymologique. Les coupes en paraffine

ont été colorées par un trichrome de Masson (Gabe, 1968). Les diverses réactions histochimiques et histoenzymologiques appliquées aux coupes à congélation figurent dans le tableau 1.

Dans le but d'examiner l'intestin en microscopie électronique, une injection de glutaraldéhyde à 2,5 % en tampon cacodylate de sodium 0,2 M (pH 7,3, 100 mosm) a été réalisée "*in situ*" pour une préfixation. Puis des échantillons ont été prélevés dans la partie distale "*ascendante*". La fixation s'est ensuite poursuivie pendant une heure. Après lavage en tampon cacodylate, les spécimens ont été postfixés une heure au tetroxyde d'osmium à 1 % dans le même tampon puis inclus en résine de Spurr (1969). Des coupes semi-fines et ultra-fines ont été confectionnées. Les coupes semi-fines ont été colorées au bleu de toluidine. Les coupes ultra-fines ont été contrastées selon la méthode de Reynolds (1963).

RESULTATS

1. Structure et ultrastructure de l'anse intestinale

L'observation des coupes en paraffine et des coupes semi-fines montre que la paroi intestinale plissée est limitée par un épithélium de type simple et prismatique reposant sur une assise conjonctivo-musculaire (pl. 1, 1). La hauteur des cellules épithéliales est variable : des cellules basses sont situées dans les cryptes ; les cellules sont plus hautes au niveau des villosités. Aux nombreux replis de la branche "*descendante*" succèdent progressivement dans la partie "*ascendante*" des plateaux de cellules hautes dont la surface s'accroît en même temps que leur nombre diminue.

L'épithélium est constitué de cellules à bordure en brosse et souvent ciliées qui présentent fréquemment, dans la partie distale de l'intestin, des extrusions cytoplasmiques apicales, de taille variable. Le cytoplasme est plus ou moins intensément coloré selon les cellules et souvent abondamment vacuolisé (pl. 1, 1). Parmi ces cellules, l'histochimie permet de détecter des mucocytes, positifs aux réactions A.P.S. et bleu Alcian (tabl. 1), plus ou moins fréquents selon les zones intestinales considérées. On peut aussi remarquer la présence de cellules disséminées présentant une réaction positive seulement au bleu Alcian.

Les cellules reposent, sur une basale irrégulière, plissée, qui les sépare d'une assise conjonctivo-musculaire épaisse d'où se détachent des fibres conjonctives parfois disposées en réseau (pl. 1, 1). Dans les

COMPOSE ETUDIE	TECHNIQUE - CONTROLE REALISE	RESULTATS
GLUCIDES	A.P.S. (Mc. Manus, 1946, d'après Lison, 1960) Contrôle par absence d'oxydation périodique Bleu Alcian (Mowry, 1956, d'après Gabe, 1968)	+ (certaines cellules) (volumineux globules +++ des cellules des plateaux : branche "ascendante") + (certaines cellules)
LIPIDES TOTAUX	Noir Soudan d'après Gabe (1968)	+
LIPASE	Gomori (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par dénaturation des enzymes à la chaleur	+
ESTERASES NON SPECIFIQUES	Burstone (1956) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+
PHOSPHATASE ALCALINE	Gomori (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+ -
PHOSPHATASE ACIDE	Grogg et Pearse (1952) d'après Gabe (1968) Contrôle par omission du substrat	+
N-ACETYL GLUCOSAMINIDASE	Moore (1976) Contrôle par omission du substrat	+ -
β GLUCURONIDASE	Moore (1976) Contrôle par omission du substrat	-
LEUCINE AMINOPEPTIDASE	Burstone et Folk (1955) Contrôle par omission du substrat	+
AMYLASE	Shear et Pearse (1963)	+

Tableau 1 : Histochimie : composés étudiés, techniques et résultats.

lacunes hémolympatiques intraconjonctives sous-jacentes à la muqueuse intestinale, et situées entre les acini, on observe de nombreux hémocytes coexistant avec des cellules vacuolaires de plus grandes dimensions (pl. 1, 1).

Au microscope électronique à transmission, la surface apicale des cellules épithéliales, de la zone distale de l'intestin, apparaît frangée de nombreuses microvillosités d'où émergent quelques cils. Les vésicules d'endocytose sont nombreuses. Le cytoplasme de la partie haute des cellules est fréquemment parsemé d'inclusions de type lysosomal, hétérogènes en densité, forme et taille et de longues mitochondries (pl. 1, 2). Les extrusions cytoplasmiques, parfois reliées par un mince pont cytoplasmique au pôle apical des cellules, renferment quelques organites (mitochondries, par exemple). Des corps résiduels sont parfois visibles dans le cytoplasme apical proche de ces extrusions. Des sphérules de cytoplasme, apparemment libres dans la lumière, avoisinent ces excroissances, ce qui suggère des processus de fragmentation.

Certaines cellules sont caractérisées par la présence d'innombrables granules osmiophiles (pl. 1, 3) dont il conviendra d'identifier précisément la nature chimique. Elles possèdent un réticulum endoplasmique très développé dont les citernes souvent dilatées (pl. 1, 3) envahissent l'ensemble du cytoplasme. L'appareil de Golgi y est aussi bien représenté.

Le noyau de toutes les cellules épithéliales, est allongé et situé en position intermédiaire ou basale. Des complexes jonctionnels (desmosomes, puis longues jonctions septées) relient étroitement dans leur partie apicale les membranes plasmiques interdigitées des cellules. En revanche, l'espace intercellulaire basal est souvent très dilaté (pl. 1, 3). Les cellules épithéliales reposent sur une basale fenêtrée, irrégulière, au moyen de projections cytoplasmiques à allure de pseudopodes (pl. 1, 4). Des hémocytes de type macrophagique, dont le cytoplasme est chargé en inclusions denses de type lysosomal, s'insinuent parfois entre les cellules épithéliales. De plus, il est assez fréquent d'observer des cellules d'aspect nécrosé intercalées entre les autres cellules.

Sous l'assise épithéliale prismatique abondent dans certaines zones (pl. 1, 2) de petites cellules de type indifférencié au rapport nucléocytoplasmique élevé.

Sous la lame basale et la couche conjonctivo-musculaire, les hémocytes des lacunes hémolympatiques présentent souvent de longs prolongements typiques de macrophages (pl. 1, 4). Leur cytoplasme est

LEGENDE DE LA PLANCHE 1

Fig. 1 - Coupe semi-fine de la paroi intestinale (départ de la branche "ascendante") et du tissu gonadique environnant. Les cellules épithéliales (ce) plus ou moins hautes de la paroi intestinale reposent sur une lame basale (lb) irrégulière. De l'assise conjonctivo-musculaire sous-jacente (cm) se détachent des fibres conjonctives (fc) rejoignant les acini (a). Des hémocytes (h) et des cellules vacuolaires (↓) sont présentes dans le tissu conjonctif interstitiel (tci). l : lumière intestinale. Echelle : 100 µm.

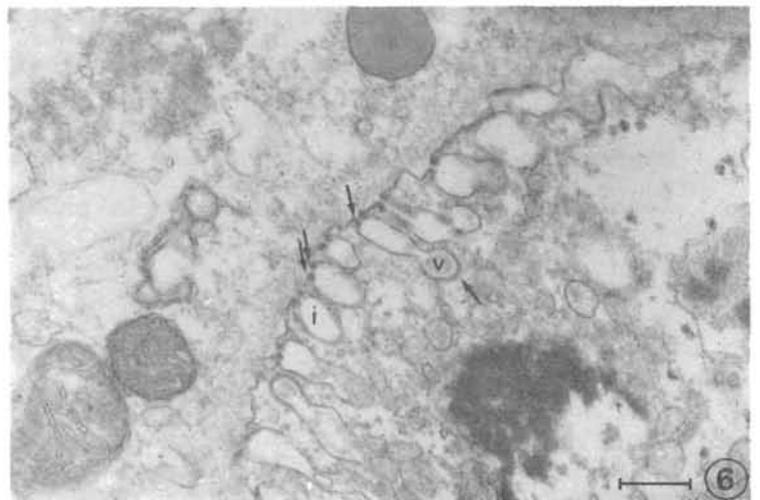
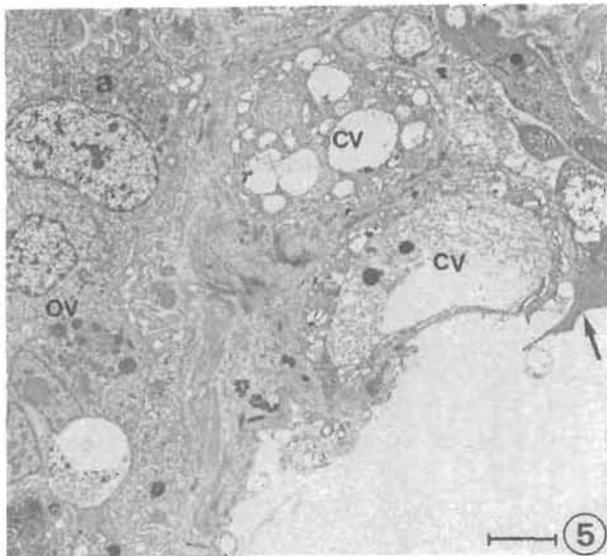
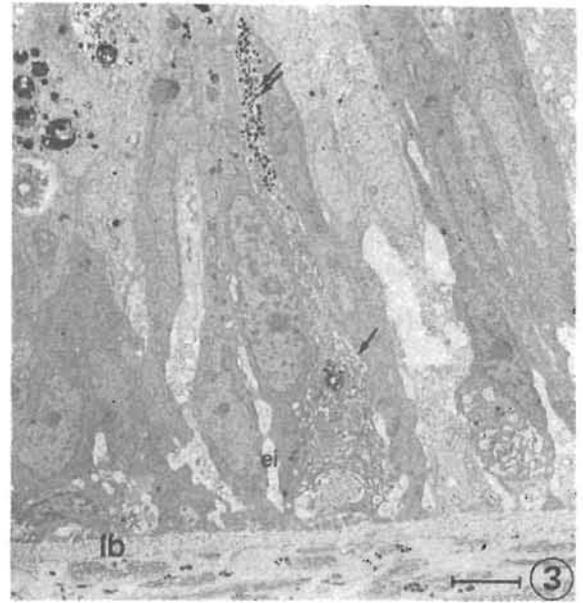
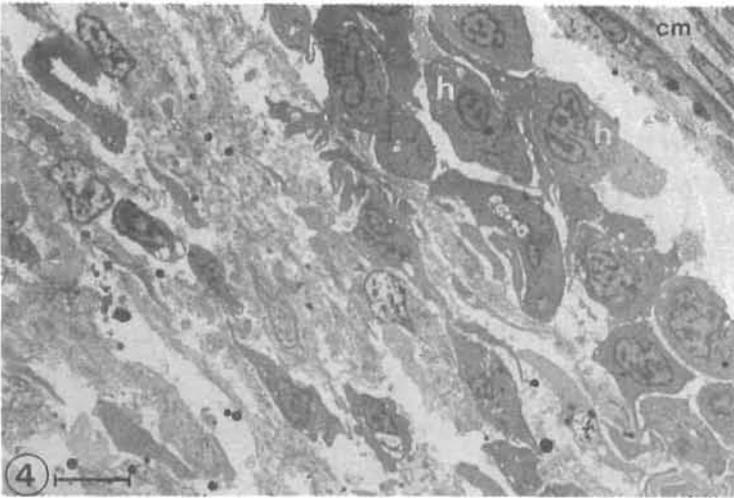
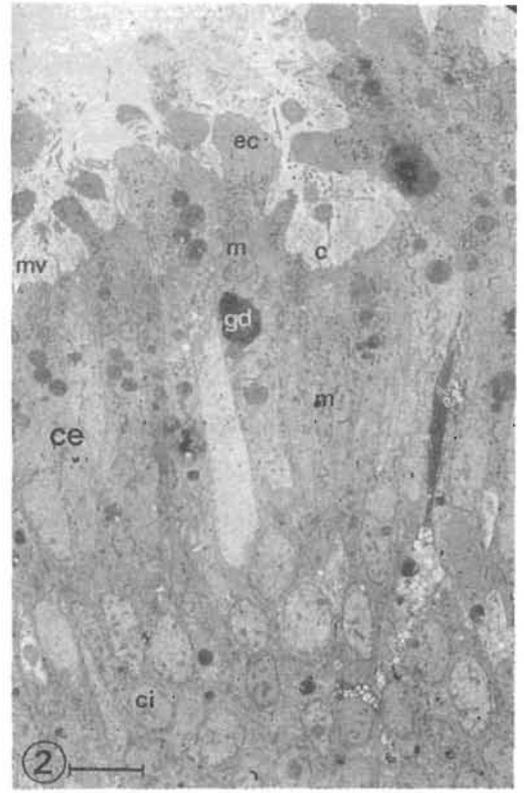
Fig. 2 - M.E.T. Les cellules épithéliales (ce) ont un pôle apical hérissé de microvillosités (mv) d'où émergent des cils (c). Les extrusions cytoplasmiques (ec) sont nombreuses. Le cytoplasme possède des inclusions denses (gd) et de nombreuses mitochondries (m). A la base des cellules on observe de nombreuses cellules indifférenciées (ci). Echelle : 6 µm.

Fig. 3 - M.E.T. Dans certaines cellules épithéliales le reticulum endoplasmique (↓) est abondant et le cytoplasme contient à l'apex de nombreux grains denses (↓ ↓). Les diverses cellules sont en contact avec une basale (lb) fenêtrée. L'espace intercellulaire (ei) est plus ou moins dilaté. Echelle : 6 µm.

Fig. 4 - M.E.T. Sous l'assise conjonctivo-musculaire (cm), dans les sinus hémolymphatiques, de nombreux hémocytes (h) à fonction macrophagique coexistent avec de grosses cellules vacuolaires (cv). Echelle : 6 µm.

Fig. 5 - M.E.T. Les grosses cellules vacuolaires (cv) sont souvent à proximité des acini gonadiques (a). Les prolongements cytoplasmiques d'un hémocyte de type macrophagique contournent partiellement une cellule vacuaire (↓). ov : ovocytes en vitellogenèse. Echelle : 4 µm.

Fig. 6 - M.E.T. Détail de la membrane plasmique d'une cellule vacuaire montrant les nombreuses invaginations et la densification de la membrane au départ des invaginations (↓). Sur les vésicules d'endocytose (v) le revêtement externe de type clathrine est visible. Echelle : 0,4 µm.



envahi de nombreuses vésicules de reticulum endoplasmique lisse et d'inclusions denses ou de vacuoles plus ou moins volumineuses. Ces hémocytes sont souvent proches de volumineuses cellules rondes ou ovales de 10 à 15 μm de diamètre (ou "cellules vacuolaires", Dorange, 1989). Leur noyau est excentré et leur cytoplasme est abondamment chargé de vacuoles et de globules plus ou moins denses (pl. 1, 5). La membrane plasmique de ces cellules vacuolaires présente de nombreuses invaginations dont les départs sont soulignés par une densification de la membrane. L'extrémité des digitations et les vésicules d'endocytoses portent un revêtement externe de type clathrine (pl. 1, 6).

Les cellules vacuolaires sont fréquemment observées dans le tissu conjonctif délimitant les acini gonadiques (pl. 1, 5) et dans les lacunes hémolympatiques où elles adhèrent largement à la basale. Parfois, des hémocytes de type macrophagique entourent partiellement les cellules vacuolaires de leur prolongements cytoplasmiques. Il semble cependant qu'ils en soient séparés par des fibres de collagène.

2. Histochimie

Outre les composés glucidiques neutres et acides, révélés dans certaines cellules par la positivité aux réactions A.P.S. et bleu Alcian qui permet d'identifier des mucocytes, divers composés ont été détectés dans des autres cellules épithéliales (tabl. 1). Tel est le cas de lipides colorés au noir Soudan, abondants dans les cellules des villosités. En ce qui concerne les réactions enzymatiques, les réponses se sont avérées positives pour toutes les enzymes recherchées (tabl. 1) sauf pour la β glucuronidase. Les enzymes détectées sont intracellulaires à l'exception de l'amylase qui semble extracellulaire. Les activités estérasique et phosphatasique acide se sont révélées les plus intenses. La réaction est particulièrement marquée dans la zone apicale des cellules hautes.

Dans les lacunes hémolympatiques sous-jacentes à la paroi intestinale, des cellules, qui correspondent selon toute vraisemblance aux hémocytes observés en microscopie électronique, réagissent aussi aux réactions de mise en évidence de la phosphatase acide et des estérases.

DISCUSSION

Plusieurs auteurs dont Zacks (1955), Reid (1966) Payne *et al.* (1972), Purchon (1971), Mathers (1973), Teo et Salapathy (1990), se basant sur des analyses enzymologiques ou histo-enzymologiques notent qu'il existe une digestion extra et/ou intra-cellulaire dans l'intestin des Bivalves. Prieur (1981) souligne, que chez les Bivalves, les bactéries présentes dans l'intestin, pourraient jouer un rôle actif dans les phénomènes de digestion en libérant des enzymes extracellulaires dont des protéases. Plus récemment, Boucaud-Camou *et al.* (1985) suggèrent que chez l'Ostreidae *Crassostrea gigas*, l'absorption et la digestion intracellulaires de substances directement assimilables, prédigérées dans les tubules digestifs et l'estomac s'achèvent dans l'intestin, surtout dans sa partie proximale.

Chez *Pecten maximus*, les caractéristiques ultrastructurales et histochimiques de l'épithélium intestinal permettent également d'envisager qu'il joue un rôle dans les processus généraux d'absorption et de digestion de métabolites.

L'existence de replis de la muqueuse, de microvillosités à l'apex des cellules épithéliales, de phénomènes d'endocytose et/ou d'exocytose traduits par la présence de nombreuses vacuoles proches de la surface cellulaire, la détection de phosphatase alcaline, enzyme associée à la membrane plasmique et qui serait impliquée dans les processus actifs de transferts membranaires (Posen, 1967), permettent d'entrevoir une fonction d'absorption de la part de cet épithélium. En outre, les nombreuses inclusions de type lysosomal et de corps résiduels dans de nombreuses cellules, d'extrusions de matériel cytoplasmique et de sphérules apparemment libres dans la lumière, semblent être des caractéristiques de cellules digestives (Baghdiguan, 1989 ; Boucaud-Camou, 1990).

L'épithélium de l'anse intestinale est en outre le siège d'activités enzymatiques variées. Plusieurs enzymes y ont été détectées mais l'analyse est encore incomplète. En dehors de l'amylase qui apparait extracellulaire et qui participe vraisemblablement à des phénomènes de digestion intraluminaire, le site d'action des enzymes est majoritairement intracellulaire. Ainsi l'épithélium intestinal possède l'équipement en hydrolases lysosomales nécessaire à une digestion intracellulaire de composés glucidiques, protéiques et lipidiques.

L'activité digestive de l'épithélium intestinal correspond vraisemblablement à deux fonctions :

- la maintenance de l'épithélium lui même qui semble exercer une activité intense et subir un renouvellement important comme en témoigne la présence de nombreuses cellules de type indifférencié sous l'assise cellulaire prismatique et de cellules apparemment dégénérées en voie d'expulsion dans la lumière ;

- la nutrition des tissus sous-jacents. Divers éléments structuraux et histochimiques plaident en effet pour une possibilité de transfert de nutriments. Il s'agit notamment de l'indentation et de la fenestration de la lame basale, de la dilatation de l'espace intercellulaire basal, également signalé pour l'épithélium de la glande digestive chez *Ruditapes decussatus* (Baghdiguan, 1989), de la présence de cellules de transit de type macrophagique entre les cellules épithéliales, et enfin de la proximité des sinus hémolympatiques où abondent des macrophages.

Les nombreux hémocytes des sinus hémolympatiques renferment des hydrolases qui digèrent les éléments phagocytés (Cheng, 1975 ; Moore et Eble, 1977).

Les hémocytes sont fréquemment associés à de volumineuses cellules vacuolaires. Décrites pour la première fois par Dorange (1989) chez *P. maximus*, elles s'apparentent, selon cet auteur, sur le plan structural aux "Brown cells" mises en évidence chez des Ostreidae (Ruddell et Wellings, 1971) et aux globulocytes de *Patinopecten yessoensis* (Motavkine et Varaksine, 1983). La fonction des cellules vacuolaires reste à ce jour hypothétique. Une fonction de stockage et d'échanges de métabolites (Dorange, 1989 ; Le Pennec *et al.*, 1991) est vraisemblable. Divers éléments ultrastructuraux (membrane plasmique présentant d'innombrables invaginations, vésicules d'endocytose revêtues de clathrine) laissent en effet penser que bien qu'étant peu ou pas mobiles, ces cellules peuvent néanmoins jouer un rôle trophique. Pour Motavkine et Varaksine (1983), les globulocytes de *Patinopecten yessoensis* sont des cellules fonctionnelles, mobiles, en provenance de l'intestin, qui assurent un rôle trophique dans la gonade. Pour Le Pennec *et al.* (1991), les cellules vacuolaires seraient pas ou peu mobiles, mais ceci pourrait être compensé par un couplage avec les hémocytes. Leur transit dans le tissu conjonctif pourrait ainsi être assuré vers les acini gonadiques où un transfert de métabolites vers les cellules germinales serait possible.

Outre les fonctions d'absorption et de digestion, l'épithélium exerce aussi une activité sécrétrice comme en témoigne la présence de mucocytes. Certaines observations incitent également à penser que d'autres

substances que du mucus pourraient être élaborées au niveau de l'anse intestinale. Certaines cellules présentent en effet un reticulum endoplasmique particulièrement abondant, un appareil de Golgi bien développé traduisant donc une activité de synthèse importante et des inclusions denses dont la nature chimique reste à identifier. Des études complémentaires s'avèrent nécessaires pour préciser ce point.

Ainsi, chez *Pecten maximus*, divers arguments ultrastructuraux et histochimiques plaident en faveur d'une absorption et d'une digestion de métabolites dans l'anse intestinale et d'un transfert de nutriments vers les acini gonadiques. La nutrition de la gonade se fait vraisemblablement par diverses voies dont l'hémolymphe, par simple diffusion, mais aussi par l'intermédiaire des hémocytes et les cellules vacuolaires. L'utilisation de traceurs radioactifs devrait permettre la mise en évidence de ces voies trophiques, à partir de l'intestin, et de préciser la part réellement assurée par les cellules vacuolaires.

-
- BENINGER P.G. & LE PENNEC M., 1991. Anatomy and function. In : **Shumway S.E. Ed., Scallops : Biology, Ecology and Aquaculture. Elsevier. Science Publishers B.V., Amsterdam, The Netherlands.**
- BENINGER P.G., AUFFRET M. & LE PENNEC M., 1990a. The peribuccal organs of *Placopecten magellanicus* and *Chlamys varia* (Mollusca : Bivalvia) : structure, ultrastructure and implications for nutrition. I : The labial palps. **Mar. Biol.**, 106 : 215-223.
- BENINGER P.G., LE PENNEC M. & AUFFRET M., 1990b. The peribuccal organs of *Placopecten magellanicus* and *Chlamys varia* (Mollusca : Bivalvia). II : The lips. **Mar Biol.**, 106 : 225-233.
- BAGHDIGUIAN S., 1989. Influence de la température et des conditions trophiques sur la physiologie de *Ruditapes decussatus* L. (Mollusque Lamellibranche). Proposition d'un nouveau modèle conceptuel de croissance. **Th. Univ. Aix-Marseille III** : 283 p.
- BOUCAUD-CAMOU E., LEBESNERAIS C., LUBET P & LIHRMANN I., 1985. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg). **Actes Coll. IFREMER**, n° 1 : 75-96.
- BURSTONE M.S. & FOLK J.E., 1955. Histochemical demonstration of aminopeptidase. **J. Histochem. Cytochem.**, 4 : 217-226.
- CHENG T.C., 1975. Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 266 : 343-379.
- DORANGE G., 1989. Les gamètes de *Pecten maximus* L. (Mollusca, Bivalvia). **Th. Univ. Brest** : 1-140, 33 pl.

- DORANGE G. & LE PENNEC M., 1989. Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the bay of St Brieuc. **Mar. Biol.**, 103 : 339-348.
- GABE M., 1968. Techniques histologiques. **Masson & Cie ed.**, Paris : 1 133 p.
- JUDD W., 1987. Crystalline style proteins from bivalve molluscs. **Comp. Biochem. Physiol.** 88B : 333-339.
- LAWRENCE J.M., 1982. Digestion, pp. 283-316, In : **Echinoderm nutrition. Jangoux M. and Lawrence J.M., Ed.**, . Rotterdam, The Netherlands : 1.
- LISON L., 1960. Histochimie et cytochimie animales. Principes et méthodes. **Gauthier-Villard ed.**, Paris, 2 : 398-842.
- LE PENNEC M., BENINGER P.G., DORANGE G. & PAULET Y.M., 1991. Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia : Pectinidae). **J. mar. biol. Ass. U.K.** 71 : 451-463.
- MATHERS N.F., 1973. A comparative histochemical survey of enzymes associated with the processes of digestion in *Ostrea edulis* and *Crassostrea angulata* (Mollusca : Bivalvia). **J. Zool. Lond.**, 169 : 169-179.
- MATHERS N.F., 1976. The effects of tidal currents on the rhythm of feeding and digestion in *Pecten maximus*. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.**, 24 : 271-283.
- MOORE C.A., 1976. Cytochemical demonstration of latency of lysosomal hydrolases in digestive cells of the common mussel, *Mytilus edulis*, and changes induced by thermal stress. **Cell Tissue Res.**, 175 : 279-287.
- MOORE C.A. & EBLE D.F., 1977. Cytochemical aspects of *Mercenaria mercenaria* hemocytes. **Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Woods Hole**, 125 : 105-119.
- MOTAVKINE P.A. & VARAKSINE A.A., 1989. La reproduction chez les mollusques bivalves. Rôle du système nerveux et régulation. **R. Scien. et Tech. IFREMER**, 10 : 1-250.
- PAYNE D.W., THORPE N.A. & DONALDSON E., 1972. Cellulolytic activity and a study of the bacterial population in the digestive tract of *Scrobicularia plana* (Da Costa). **Proc. Malac. Soc. London**, 40 : 147-160.
- POSEN S., 1967. Alkaline phosphatase. **Ann. Intern. Med.**, 67 : 183-203.
- PRIEUR D., 1981. Les relations entre Mollusques Bivalves et bactéries hétérotrophes en milieu marin. Etude analytique et expérimentale. **Th. Doct. Etat, Brest** : 1-266.
- PURCHON R.D., 1957. The stomach in the Filibranchia and Pseudolamellibranchia. **Proc. Zool. Soc. Lond.**, 129 : 27-60.
- PURCHON R.D., 1971. Digestion in filter feeding bivalves - a new concept. **Proc. Malac. Soc. London**, 39 : 253-262.

- PURCHON R.D., 1977. The biology of Mollusca. 2nd edition. Pergamon, Oxford : 1.
- REID K.G., 1966. Digestion tract enzymes in the bivalves *Lima hians* Gmelin and *Mya arenaria*. L. **Comp. Bioc. and Phys.**, 17 : 417-433.
- REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. **J. Cell. Biol.**, 17 : 208-212.
- RUDDLELL C.L. & WILLINGS S.R., 1971. The ultrastructure of the Oyster Brown cell, a cell with a fenestrated plasma membrane. **Z. Zellforsch.** 120 : 17-28.
- SHEAR M. & PEARSE A.G.E., 1963. A starch substrate film method for the histochemical localization of amylase. **Exptl. Cell. Res.**, 32 : 174-177.
- SPURR A.R., 1969. A low viscosity epoxy resin embedding for electron microscopy. **J. Ultrastruct. Res.**, 26 : 31-43.
- TEO L.H. & SALAPATHY U., 1990. Preliminary report on the digestive enzymes present in the digestive gland of *Perna viridis*. **Mar. Biol.** 106 : 403-407.
- USHEVA L.N., 1983. Cell histomorphology and proliferation of the posterior intestine epithelium in the Yezo scallop *Patinopecten yessoensis*. **Biol. Morya**, 3 : 17-24.
- WOJTOWICZ M.B., 1972. Carbohydrases of the digestive gland and the crystalline style of the Atlantic Deep-Sea Scallop *Placopecten magellanicus* Gmelin. **Comp. Biochem. Physiol.** 43A : 131-141.
- ZACKS S.I., 1955. The cytochemistry of the amaeocytes and intestinal epithelium of *Venus mercenaria* (Lamellibranchiata), with remarks on a pigment resembling ceriod. **Q.J. Micros. Sc.**, 96 : 57-71.