

## Enzymologie du tractus digestif de la modiole hydrothermale *Bathymodiolus thermophilus* (Mollusque Bivalve)

MARCEL LE PENNEC, JEAN-CLAUDE MARTINEZ, ANNE DONVAL, ANGÈLE HERRY ET PETER BENINGER  
Laboratoire de biologie marine, Unité de recherche associée n° D1513 du Centre national de la recherche scientifique,  
Institut d'études marines, Université de Bretagne Occidentale, 29 287 Brest CEDEX, France

Reçu le 4 février 1992

Accepté le 2 juin 1992

LE PENNEC, M., MARTINEZ, J.-C., DONVAL, A., HERRY, A., and BENINGER, P. 1992. Enzymologie du tractus digestif de la modiole hydrothermale *Bathymodiolus thermophilus* (Mollusque Bivalve). *Can. J. Zool.* **70**: 2298–2302.

Chez le *Bathymodiolus thermophilus*, les bactéries chimioautotrophes présentes dans les bactériocytes branchiaux constituent une source de nutriments pour le bivalve. Cet apport nutritif s'ajoute à celui fourni vraisemblablement par le tractus digestif dont la structure et la cytologie sont indentiques à celles des autres bivalves, mais pour lequel aucune étude enzymologique n'avait encore été réalisée. Afin de combler cette lacune, des tests enzymologiques et histoenzymologiques ont été appliqués sur les différentes régions de ce tractus : palpes labiaux, oesophage, estomac, glande digestive, intestin et rectum. Les résultats obtenus témoignent d'activités enzymatiques variables. Parmi les 33 enzymes étudiées, les osidases, présentes principalement dans la glande digestive et l'estomac, sont les plus actives. Elles permettraient une alimentation microphage ayant pour origine l'environnement immédiat de ce bivalve et la zone photique. Les phosphatases acides, présentes dans toutes les régions du tractus, sont les témoins d'une digestion intracellulaire des nutriments, tandis que les phosphatases alcalines, principalement dans la glande digestive et l'estomac, sont responsables de phénomènes d'absorption. Ainsi, grâce à son équipement enzymatique, le tractus digestif du *B. thermophilus* peut intervenir dans l'ingestion et la digestion de particules nutritives d'origines diverses pour une part qu'il est cependant difficile de quantifier.

LE PENNEC, M., MARTINEZ, J.-C., DONVAL, A., HERRY, A., et BENINGER, P. 1992. Enzymologie du tractus digestif de la modiole hydrothermale *Bathymodiolus thermophilus* (Mollusque Bivalve). *Can. J. Zool.* **70** : 2298–2302.

Although the structure and ultrastructure of the digestive tract of the hydrothermal vent mytilid *Bathymodiolus thermophilus* conform to those of other bivalves, enzymological data are lacking. To address this question, digestive enzyme assays and histoenzymological tests were performed on different regions of the digestive tract: labial palps, oesophagus, stomach, digestive gland, intestine, and rectum. Carbohydrases, mainly present in the digestive gland and the stomach, were the most active of the 33 enzymes studied. These enzymes would allow substantial digestion of particles from the immediate environment as well as those descending from the photic zone. Acid phosphatases present in all the compartments of the digestive tract indicate intracellular digestion, whereas alkaline phosphatase activity, mainly in the digestive gland and the stomach, demonstrates absorption phenomena. We conclude that, in addition to the nutrient supply furnished by chemoautotrophic bacteria in the gill bacteriocytes, the digestive tract is functional and provides at least some of the nutritive requirements of this species.

### Introduction

Au cours de la précédente décennie, de nombreuses études ont été consacrées à la connaissance des principales fonctions biologiques de la modiole hydrothermale *Bathymodiolus thermophilus*. Une des premières questions soulevées concernait sa nutrition (Corliss et Ballard 1977; Lonsdale 1977; Rau et Hedges 1979; Turekian *et al.* 1979), et des réponses ont été fournies grâce aux résultats d'analyses isotopiques (Rau 1981; Williams *et al.* 1981), enzymatiques (Felbeck *et al.* 1981; Felbeck et Somero 1982) et cytologiques (Le Pennec *et al.* 1983; Le Pennec et Hily 1984; Kenk et Wilson 1985; Hily *et al.* 1986; Fiala-Médioni *et al.* 1986). C'est ainsi que le rôle nutritionnel de la branchie a été démontré en raison de sa capacité à dégrader des bactéries chimioautotrophes présentes dans les bactériocytes fournissant ainsi des métabolites nécessaires au développement des divers tissus du bivalve (Williams *et al.* 1981; Felbeck *et al.* 1983; Cavanaugh 1985).

En parallèle, des recherches réalisées sur l'appareil digestif du *B. thermophilus* ont révélé une structure générale et une histologie analogues à celles classiquement décrites chez les bivalves, qu'ils soient marins, littoraux ou profonds, ou dulcicoles (Hily *et al.* 1986). En revanche, chez le *Calypptogena magnifica*, autre espèce dominante des sites hydrothermaux de la ride orientale du Pacifique, le tractus digestif, réduit, ne semble pas adapté au transfert de particules nutritives en quantité suffisante pour assurer la nutrition de l'espèce (Fiala-Médioni et Métivier 1986). Cependant, selon Morton

(1986), le tractus digestif de ce bivalve pourrait participer à la dégradation de bactéries, nombreuses dans l'environnement des événements. Chez le *B. thermophilus*, la présence d'un matériel abondant et hétérogène dans le tractus digestif laissait penser que celui-ci jouait également un rôle dans l'ingestion et la dégradation de nutriments (Le Pennec et Prieur 1984; Le Pennec 1988). C'est pour vérifier cette hypothèse que nous avons tenté de mettre en évidence l'équipement enzymatique des diverses composantes du tractus digestif.

### Matériel et méthodes

Les modioles ont été prélevées par le submersible français Nautille durant la campagne franco-américaine Hydronaut, en novembre 1987, sur le site Est Pacifique de 13° de latitude nord, par 2600 m sous le niveau de la mer.

Dès leur remontée à bord du navire le Nadir, elles ont été disséquées et congelées à l'azote liquide avant d'être conservées au congélateur à -80°C jusqu'à leur analyse au laboratoire.

Les techniques enzymologiques et histoenzymologiques utilisées sont présentées aux tableaux 1 et 2. Dix-neuf activités enzymatiques ont été recherchées suivant la méthode de Plantevin et Nardon (1972), commercialisée sous le nom d'« apizym ». Les substrats utilisés sont des esters de naphtol ou d'une naphtylamide. L'enzyme libère, par hydrolyse, un naphtol ou une naphtylamide qui, couplé avec un sel de diazonium, produit une réaction colorée. Les nombres 1 à 8, correspondant à une gradation de coloration, traduisent l'activité plus ou moins grande des enzymes. Ces tests enzymatiques ont

TABLEAU 1. Tests apizym dans diverses régions du tractus digestif et dans la branchie du *B. thermophilus*

	Organe				
	Oesophage	Glande digestive	Estomac	Rectum	Branchie
$\alpha$ -Fucosidase	5	3	5	5	5
$\alpha$ -Galactosidase	0	1	0	0	0
$\beta$ -Galactosidase	4	5	4	3	5
$\alpha$ -Mannosidase	1	4	3	0	2
$\alpha$ -Glucosidase	1	4	3	0	2
$\beta$ -Glucosidase	0	0	0	0	0
<i>N</i> -Acétyl- $\beta$ -glucosaminidase	5	3	2	2	4
$\beta$ -Glucuronidase	5	4	4	1	3
$\alpha$ -Chymotrypsine	0	0	0	0	0
Trypsine	0	0	0	0	0
Cystine arylamidase	1	1	1	1	1
Leucine arylamidase	3	3	3	3	2
Valine	3	3	3	2	3
Estérase	2	4	4	2	1
Estérase lipase	3	3	3	2	3
Lipase	0	0	1	0	0
Phosphatase acide	5	5	5	3	5
Phosphatase alcaline	1	5	3	0	3
Phosphoamidase	2	5	4	1	5

TABLEAU 2. Méthodes histoenzymologiques appliquées au tractus digestif et à la branchie du *B. thermophilus*

Enzyme	Organes							Méthodologie
	Branchie	Palpes labiaux	Oesophage	Glande digestive	Estomac	Intestin	Rectum	
Protéase	-	-	/	-	/	-	-	Chrétien 1965
Leucine aminopeptidase	+	+	/	/	/	+	+	Moore <i>et al.</i> 1980
Chymotrypsine	-	-	/	-	/	-	-	Lagunoff 1967
Trypsine	-	-	/	-	/	-	-	Glenner et Cohen 1960
Amylase	-	-	/	-	-	+	+	Shear et Pearse 1963
Cellulase	+	+	+	+	+	+	+	Arnould et Bouchez-Declouz 1978
Laminarinase	+	-	+	+	-	+	+	Arnould et Bouchez-Declouz 1978
Chitinase	+	+	/	+	/	+	+	Arnould et Bouchez-Declouz 1978
<i>D</i> -Glucosidase	-	-	/	-	/	-	-	Rutengurg <i>et al.</i> 1959
<i>D</i> -Glucosidase	-	-	/	-	/	-	-	Seligman <i>et al.</i> 1954
<i>N</i> -Acétyl-glucosaminidase	-	-	/	+	/	-	+	Moore 1976
$\beta$ -Glucuronidase	-	-	/	+	/	-	-	Moore 1976
Phosphatase acide	+	+	/	+	/	+	+	Grogg et Pearse 1952 dans Gabe 1968
Phosphatase alcaline	-	-	/	+	/	+	-	Gomori 1952
Estérases non spécifiques	+	+	/	+	/	+	+	Burstone 1956 dans Gabe 1968

NOTA : +, présence d'enzyme; -, absence d'enzyme; /, non testé.

été réalisés sur divers organes du tractus digestif : oesophage, glande digestive, estomac et rectum, et sur la branchie, par comparaison.

Les méthodes histoenzymologiques d'empreintes (tableau 2) utilisant l'action directe du cryodécapage sur un film de substrat ont permis la recherche des protéases, de l'amylase, de la cellulase, de la chitinase et de la laminarinase. La cellulose et la chitine ont été rendues solubles par carboxyméthylation. Les méthodes histoenzymologiques de précipitation (tableau 2) ont été utilisées pour la recherche des enzymes suivantes : leucine aminopeptidase, chymotrypsine, trypsine,  $\alpha$ -*D*-glucosidase, *N*-acétyl-glucosaminidase,  $\beta$ -glucuronidase, phosphatase acide, phosphatase alcaline et estérases non spécifiques. Les tests histoenzymologiques ont porté sur les palpes labiaux, l'oesophage, la glande digestive, l'estomac, l'intestin, le rectum et la branchie qui participe à la dégradation de métabolites carbonés (Felbeck *et al.* 1983).

## Résultats

La plupart des enzymes recherchées par les tests apizym sont présentes dans le tractus digestif de la modiole à l'exception de la chymotrypsine et de la trypsine (tableau 1). D'autres sont faiblement révélées, comme la cystine arylamidase, tandis que la galactosidase l'est uniquement dans la glande digestive, et la lipase seulement dans l'estomac. En revanche l' $\alpha$ -fucosidase, la  $\beta$ -galactosidase, la  $\beta$ -glucuronidase, la leucine arylamidase, la valine, l'estérase, l'estérase lipase et la phosphatase acide sont fortement révélées dans toutes les composantes du tractus digestif. L' $\alpha$ -mannosidase, l' $\alpha$ -glucosidase, la phosphatase alcaline et la phosphoamidase sont surtout présentes dans la glande digestive et l'estomac.

Les tests enzymatiques réalisés sur la branchie donnent sensiblement les mêmes résultats que ceux obtenus sur le tractus digestif. Cinq enzymes sont absentes : l' $\alpha$ -D-galactosidase, la  $\beta$ -glucosidase, l' $\alpha$ -chymotrypsine, la trypsine et la lipase. Quatre autres, l' $\alpha$ -fucosidase, la  $\beta$ -galactosidase, la phosphatase acide et la phosphoamidase sont abondantes.

Les tests histoenzymologiques mettent en évidence de nombreuses enzymes réparties tout au long du tractus digestif (tableau 2). Ils confirment la présence de la *N*-acétyl-glucosaminidase et de la  $\beta$ -glucuronidase dans la glande digestive, des phosphatases acide et alcaline et des estérases non spécifiques dans la glande digestive et l'intestin ainsi que dans les branchies pour les deux derniers types d'enzymes. L' $\alpha$ -glucosidase n'a pu être détectée. Ils confirment également l'absence totale de protéases telles que la chymotrypsine et la trypsine, y compris dans les branchies. La leucine aminopeptidase est toutefois active dans l'intestin et le rectum. Enfin, ces tests indiquent que la cellulase, la laminarinase et la chitinase sont présentes tout au long du tractus digestif et aussi dans les branchies. Seule l'amylase n'est décelable que dans l'intestin et le rectum.

### Discussion

Depuis les travaux de Yonge (1926) qui a formulé la première interprétation de la digestion chez les mollusques bivalves, divers schémas nutritionnels ont été proposés, notamment par Owen (1966), Purchon (1971) et Morton (1983). Bien que les résultats obtenus varient selon l'environnement et les conditions de nutrition des espèces étudiées, ils mettent en évidence des caractères communs de la digestion chez les bivalves et précisent le rôle des différentes régions du tractus digestif.

Chez le *B. thermophilus*, la structure générale et l'histologie ne diffèrent guère de celles des bivalves profonds, non inféodés à l'écosystème hydrothermal profond, sauf par son intestin qui ne présente aucune circonvolution. Dans les tubules de la glande digestive, les deux types cellulaires décrits par Owen (1970) sont également présents : la cellule digestive responsable de la digestion intracellulaire et la cellule basophile sécrétrice (Hily *et al.* 1986).

L'examen de contenus stomacaux au microscope électronique à balayage révèle une abondance et une variété de particules plus ou moins identifiables (Le Pennec et Prieur 1984; Le Pennec 1988). Des organismes en décomposition en provenance de la zone photique, dont des frustules de diatomées, ainsi que des bactéries et des petits organismes benthiques hydrothermaux ou non parviennent sur les sites actifs d'hydrothermalisme par le jeu des courants d'advection (Lonsdale 1977).

Les études enzymologiques et histoenzymologiques confirment l'existence de la digestion intracellulaire et extracellulaire dans le tractus alimentaire du *B. thermophilus*. Bien que de structure différente, selon les régions du tractus digestif, l'épithélium de revêtement est le siège d'activités enzymatiques variées. Bien qu'il ne s'agisse que d'une première étude, plusieurs enzymes ont été détectées avec un site d'action majoritairement intracellulaire. Les activités enzymatiques décelées par histochimie concernent en majorité des osidases. Par ailleurs, aucune activité protéolytique n'a été décelée par les techniques d'empreintes. De même, nous n'avons pas obtenu de résultats positifs pour la trypsine et la chymotrip-

sine, alors que cette enzyme a été mise en évidence chez un certain nombre de bivalves (Reid 1978). Il serait intéressant de rechercher des enzymes de type cathepsine chez le *B. thermophilus*. Il est généralement admis que, chez les bivalves, ces peptidases intracellulaires assurent la dégradation des protéines (Reid 1972; Reid et Rauchert 1976).

Les phosphatases acides, marqueurs cytochimiques des lysosomes, sont toujours associées aux tissus impliqués dans un transfert actif (Lawrence 1982; Hily 1983; Lubet *et al.* 1987) et assurent une digestion intracellulaire. Les phosphatases alcalines, impliquées dans les processus actifs de transport membranaire (Posen 1967), reflètent d'importants phénomènes d'absorption dans la glande digestive, l'estomac et l'intestin.

La  $\beta$ -glucuronidase de la glande digestive permettrait le passage du glucose dans le métabolisme cellulaire. De la même façon, l' $\alpha$ -D-glucosidase, active dans l'estomac et la glande digestive, rendrait possible l'utilisation du glycogène de réserve par le bivalve hydrothermal.

L'activité cellulolytique observée, y compris dans la branchie, confère au bivalve l'aptitude à dégrader les parois squelettiques de certaines algues. La cellulase est également capable d'hydrolyser la laminarine des algues.

Les chitinases permettent la dégradation de la chitine des crustacés toujours abondants sur les sites hydrothermaux actifs. La *N*-acétyl-glucuronidase jouerait le même rôle, tout en hydrolysant les parois des bactéries également nombreuses dans l'environnement de la modiole.

L'équipement enzymatique de la glande digestive et de l'estomac du *B. thermophilus* ne diffère donc pas de celui des espèces littorales comme l'*Ostrea edulis*, le *Crassostrea angulata* (Mathers 1973), le *Mytilus edulis* (Moore *et al.* 1980) et le *Crassostrea gigas* (Boucaud-Camou *et al.* 1985). De ce fait, les particules qui pénètrent dans l'estomac et dans les canaux de la glande digestive subissent une première digestion et sont partiellement assimilées. Puis, les résidus de la digestion et les particules non dégradables parviennent dans l'intestin.

Plusieurs auteurs dont Zacks (1955), Reid (1966), Payne *et al.* (1972), Purchon (1971), Mathers (1973) et Teo et Sabapathy (1990) ont montré, grâce à des analyses enzymologiques et histoenzymologiques qu'il existe une digestion extra- (ou) intra-cellulaire dans l'intestin des bivalves. Cependant, cette digestion pourrait être due aux enzymes présentes dans les cellules épithéliales ou libérées par ces dernières ou par des bactéries présentes dans la lumière intestinale. Récemment, Le Pennec *et al.* (1991, 1992) ont souligné que l'épithélium intestinal du *Pecten maximus* intervient dans les processus généraux d'absorption et de digestion des métabolites, en liaison étroite avec la gonade. Chez le *B. thermophilus*, bien que l'intestin soit de courte longueur, l'équipement enzymatique permet de poursuivre la digestion de substances directement assimilables, prédigérées dans les tubules digestifs et l'estomac.

Ainsi la place particulière occupée par le *B. thermophilus* dans l'écosystème hydrothermal est confirmée par sa capacité à récupérer l'énergie nutritionnelle à la fois par sa branchie et son tractus digestif. Une déplétion de  $^{13}\text{C}$  de  $-32,7$  à  $-33,6\%$  dans les tissus (Rau et Hedges 1979) suggérait une alimentation en majeure partie dépendante des bactéries intrabranchediales. En dehors de cette voie nutritionnelle impliquant la branchie, il faut considérer que le tractus digestif capable d'ingérer divers nutriments intervient aussi dans la nutrition du bivalve.

## Remerciements

Nous remercions Michel Segonzac du Centre de tri océanologique et biologique, Brest, qui nous a confié les spécimens du *B. thermophilus*, et Nathalie Casse, pour sa participation dans l'utilisation des méthodes enzymologiques et histoenzymologiques. L'aide financière nécessaire à cette étude a été obtenue, en partie, dans le cadre du Programme national d'études de l'hydrothermalisme océanique.

Arnould, C., et Bouchez-Decloux, N. 1978. Méthodes histoenzymologiques pour la détection de cellulase, de chitinase et de laminarinase. Application au bouclier gastrique du mollusque bivalve *Scrobicularia plana*. *Histochemistry*, **56** : 45–54.

Boucaud-Camou, E., Lebesnerais, C., Lubet, P., et Lihmann, I. 1985. Dynamique et enzymologie de la digestion chez l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Actes Coll. IFREMER*, **1** : 75–96.

Cavanaugh, C. M. 1985. Symbioses of chemoautotrophic bacteria and marine invertebrates from hydrothermal vents and reducing sediments. *Bull. Biol. Soc. Wash.* **6** : 373–388.

Corliss, J. B., et Ballard, D. 1977. Oases of life in the cold abyss. *Natl. Geogr. Mag.* **152** : 441–453.

Chrétien, M. 1965. Mise en évidence histochimique d'une activité protéasique sensible à l'action de la testostérone dans les glandes sous-maxillaires et rétrolinguales de la souris. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci.* **261** : 5633–5636.

Felbeck, H., Childress, J. J., et Somero, G. N. 1981. Calvin–Benson cycle and sulphide oxidation enzymes in animals from sulphide-rich habitats. *Nature (London)*, **293** : 291–293.

Felbeck, H., Childress, J. J., et Somero, G. N. 1983. Biochemical interactions between molluscs and their algal and bacterial symbionts. *Dans The Mollusca*. Vol. 2. Environmental biochemistry and physiology. *Éditeurs* : P. Hochachka et W. Hochachka. Academic Press, New York. pp. 331–358.

Felbeck, H., et Somero, G. N. 1982. Primary production in deep-sea hydrothermal vent organisms: roles of sulphide oxidizing bacteria. *Trends Biochem. Sci.* **7** : 201–204.

Fiala-Médioni, A., et Métivier, C. 1986. Ultrastructure of the gill of the hydrothermal vent bivalve *Calyptogena magnifica*, with a discussion of its nutrition. *Mar. Biol.* **90** : 215–222.

Fiala-Médioni, A., Métivier, C., Herry, A., et Le Pennec, M. 1986. Ultrastructure of the gill of the hydrothermal vent mytilid *Bathymodiolus* sp. *Mar. Biol. (Berlin)*, **92** : 65–72.

Gabe, M. 1968. Techniques histologiques. Masson Éditeur, Paris.

Glenner, G. C., et Cohen, L. A. 1960. Histochemical demonstration of a species specific trypsin-like enzyme in mast cells. *Nature (London)*, **195** : 846–847.

Gomori, G. 1952. Microscopic histochemistry. University of Chicago Press, Chicago.

Hily, A. 1983. Étude histoenzymologique de la digestion chez *Ruditapes philippinarum*. *Actes Coll. IFREMER*, **1** : 97–108.

Hily, A., Le Pennec, M., et Henry, M. 1986. Ultrastructure des diverticules digestifs d'un mytilidae des sources hydrothermales du Pacifique oriental. *C. R. Acad. Sci. Sér. 3*, **302** : 495–502.

Kenk, V. D., et Wilson, B. R. 1985. A new mussel (Bivalvia Mytilidae) from hydrothermal vent in the Galapagos rift zone. *Malacologia*, **26** : 253–271.

Lagunoff, D. 1967. Histochemistry of proteolytic enzymes. *Methods Achiev. Exp. Pathol.* **2** : 5577.

Lawrence, J. M. 1982. Digestion. *Dans Echinoderm nutrition*. *Éditeurs* : M. Jangoux et J. M. Lawrence. A. A. Balkema, Rotterdam. pp. 283–316.

Le Pennec, M. 1988. Alimentation et reproduction d'un Mytilidae des sources hydrothermales profondes du Pacifique oriental. *Oceanol. Acta*, **8** : 181–190.

Le Pennec, M., et Hily, A. 1984. Anatomie, structure et ultrastruc-

ture de la branchie d'un Mytilidae des sites hydrothermaux du Pacifique oriental. *Oceanol. Acta*, **7** : 517–523.

Le Pennec, M., et Prieur, D. 1984. Observations sur la nutrition d'un Mytilidae d'un site hydrothermal actif de la dorsale du Pacifique oriental. *C. R. Acad. Sci. Sér. 3*, **298** : 493–498.

Le Pennec, M., Petit, H., et Lucas, A. 1983. Études préliminaires sur un Mytilidae des sources hydrothermales du Pacifique. *Haliothis*, **13** : 69–82.

Le Pennec, M., Beninger, P. G., Dorange, G., et Paulet, Y. M. 1991. Trophic sources and pathways to the developing gametes of *Pecten maximus* (Bivalvia: Pectinidae). *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* **71** : 451–463.

Le Pennec, M., Dorange, G., Beninger, P., et al. 1992. Les relations trophiques anse intestinale – gonade chez *Pecten maximus* (Mollusque, Bivalve). *Actes Coll. IFREMER*, **13** : 57–69.

Lonsdale, P. 1977. Clustering of suspension-feeding macrobenthos near abyssal hydrothermal vents at oceanic spreading centers. *Deep-Sea Res.* **24** : 857–863.

Lubet, P., Besnard, J. Y., Faveris, R., et Robbins, I. 1987. Physiologie de la reproduction de la coquille St-Jacques (*Pecten maximus* L.). *Oceanis*, **13** : 265–290.

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. (London)*, **169**(2) : 169–179.

Moore, M. N. 1976. Cytochemical demonstration of latency of lysosomal hydrolases in digestive cells of the common mussel, *Mytilus edulis*, and changes induced by thermal stress. (En allemand.) *Cell Tissue Res.* **175** : 279–287.

Moore, M. N., Hoehn, R. K., et Bayne, B. 1980. Leucine aminopeptidase (Aminopeptidase 1), *N*-acetyl- $\beta$ -hexosaminidase and lysosomes in the mussel, *Mytilus edulis* L., in response to salinity changes. *J. Exp. Zool.* **214** : 239–249.

Morton, B. 1983. Feeding and digestion in Bivalvia. *Dans Mollusca*. Vol. 5. Physiology. Partie 2. *Éditeurs* : A. S. M. Saleuddin et K. M. Wilbur. Academic Press, New York. pp. 65–147.

Morton, B. 1986. The functional morphology of the organs of feeding and digestion of the hydrothermal vent bivalve *Calyptogena magnifica* (Vesicomidae). *J. Zool. (London)*, **208** : 83–98.

Owen, G. 1966. Digestion. *Dans Physiology of Mollusca*. Vol. 2. *Éditeurs* : K. M. Wilbur et C. M. Yonge. Academic Press, New York. pp. 53–96.

Owen, G. 1970. The fine structure of the digestive tubules of the marine bivalve *Cardium edule*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B*, **258** : 245–260.

Payne, D. W., Thorpe, N. A., et Donaldson, E. 1972. Cellulolytic activity and a study of the bacterial population in the digestive tract of *Scrobicularia plana* (Da Costa). *Proc. Malacol. Soc. Lond.* **40** : 147–160.

Plantevin, G., et Nardon, P. 1972. Utilisation d'une microméthode de détection pour la recherche qualitative d'activités enzymatiques dans les tissus d'insectes. *Ann. Zool. Écol. Anim.* **4** : 229–248.

Posen, S. 1967. Alkaline phosphatase. *Ann. Intern. Méd.* **67** : 183–203.

Purchon, R. D. 1971. Digestion in filter feeding bivalves — a new concept. *Proc. Malacol. Soc. Lond.* **39** : 253–262.

Rau, G. H. 1981. Hydrothermal vent clam and tube worm  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ : further evidence of nonphotosynthetic food sources. *Science (Washington, D.C.)*, **213** : 338–340.

Rau, G. H., et Hedges, J. I. 1979. Carbon-13 depletion in a hydrothermal vent mussel: suggestion of a chemosynthetic food source. *Science (Washington, D.C.)*, **203** : 648–649.

Reid, R. C. B. 1966. Digestive tract enzymes in the bivalves *Lima hians* Gmelin and *Mya arenaria* L. *Comp. Biochem. Physiol.* **17** : 417–433.

Reid, R. C. B. 1972. Protein digestion in members of the genus *Macoma* (Mollusca: Bivalvia). *Comp. Biochem. Physiol. A*, **41** : 887–895.

- Reid, R. C. B. 1978. The systematic, adaptive and physiological significance of proteolytic enzyme distribution in Bivalves. *Veliger*, **20** : 260–265.
- Reid, R. C. B., et Rauchert, K. 1976. Catheptic endopeptidases and protein digestion in the horse clam *Tresus capax* (Gould). *Comp. Biochem. Physiol. B*, **54** : 467–472.
- Rutenburg, A. M., Goldberg, J. A. Rutenburg, S. H., et Lang, R. T. 1959. The histochemical demonstration of  $\alpha$ -D-glucosidase in mammalian tissues. *J. Histochem. Cytochem.* **8** : 268–272.
- Seligman, A. M., Tsou, K. C., Rutenburg, S. H., et Cotten, R. B. 1954. Histochemical demonstration of  $\beta$ -D-glucuronidase with a synthetic substrate. *J. Histochem. Cytochem.* **2** : 209–229.
- Shear, M., et Pearse, A. G. E. 1963. A starch substrate film method for the histochemical localization of amylase. *Exp. Cell Res.* **32** : 174–176.
- Teo, L. H., et Sabapathy, U. 1990. Preliminary report on the digestive enzymes present in the digestive gland of *Perna viridis*. *Mar. Biol. (Berlin)*, **106** : 403–407.
- Turekian, K. K., Cochran, J. K., et Nazaki, Y. 1979. Growth rate of a clam from the Galapagos rise hot spring field using natural radionuclide ratios. *Nature (London)*, **280** : 385–387.
- Williams, P., Smith, K. L., Druffel, E. M., et Nazaki, Y. 1981. Dietary carbon sources of mussels and tube worms from Galapagos hydrothermal vents determined from tissue  $^{14}\text{C}$  activity. *Nature (London)*, **292** : 448–449.
- Yonge, C. M. 1926. Structure and physiology of organs of feeding and digestion in *Ostrea edulis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* **14** : 295–386.
- Zacks, S. I. 1955. The cytochemistry of the amoebocytes and intestinal epithelium of *Venus mercenaria* (Lamellibranchiata), with remarks on a pigment resembling ceroid. *Q. J. Microsc. Sci.* **96** : 57–71.

**This article has been cited by:**

1. Enikő Kádár, Sean A. Davis, Alexandre Lobo-da-Cunha. 2008. Cytoenzymatic investigation of intracellular digestion in the symbiont-bearing hydrothermal bivalve *Bathymodiolus azoricus*. *Marine Biology* **153**, 995-1004. [[CrossRef](#)]
2. Marcel Le Pennec, Peter G Beninger. 2000. Reproductive characteristics and strategies of reducing-system bivalves. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **126**, 1-16. [[CrossRef](#)]
3. M.A. Johnson, Y.M. Paulet, A. Donval, M. Le Pennec. 1996. Histology, histochemistry and enzyme biochemistry in the digestive system of the endosymbiont-bearing bivalve *Loripes lucinalis* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **197**, 15-38. [[CrossRef](#)]
4. Marcel Le Pennec, Peter G. Beninger, Angèle Herry. 1995. Feeding and digestive adaptations of bivalve molluscs to sulphide-rich habitats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **111**, 183-189. [[CrossRef](#)]