

论文

一个有关双壳贝类贝壳年轮纹可能的形成机理

刘晓军^①, 闫振广^③, 郑桂兰^①, 张贵友^①, 王洪钟^①, 谢莉萍^{①②*}, 张荣庆^{①②*}

① 清华大学生命科学学院, 海洋生物技术研究所, 北京 100084;

② 清华大学生命科学学院, 蛋白质科学教育部重点实验室, 北京 100084;

③ 中国环境科学研究院, 国家环境保护化学品生态效应与风险评估重点实验室, 北京 100012

* 联系人, E-mail: lpxie@mail.tsinghua.edu.cn; rqzhang@mail.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2010-09-27; 接受日期: 2010-12-06

国家自然科学基金(批准号: U0831001, 40876068)和国家高技术研究发展计划(批准号: 2010CB126405, 2010AA09Z405)资助项目

摘要 在合浦珠母贝中, 发现了一个边缘部分正在生长中的贝壳. 该贝壳边缘部分具有独特的超微结构, 在棱柱层中存在中空的尚未被碳酸钙填充的有机鞘, 更为独特的是在该边缘部位发现珍珠层的存在. 与正常贝壳比较, 这一独特贝壳的边缘处于急速生长中. 为了解释这些现象, 假设了贝壳“跳跃式生长”的概念. 当外套膜相对于贝壳的位置发生变化时, 贝壳即进入跳跃式生长. 具体表现为贝壳内表面原有的生长点在很短的时间内沿着贝壳的生长方向向前移动一段距离. 跳跃式生长解释了本研究发现的独特结构以及在一般贝壳中年轮纹的形成. 贝壳的年轮纹就是由跳跃式生长引起的贝壳超微结构的不连续造成的.

关键词

双壳贝类
贝壳超微结构
壳内年轮纹
棱柱层
珍珠层

珍珠贝(*Pinctada maxima*)的贝壳由珍珠层和棱柱层两个矿化层组成. 在纵切面上, 存在贯穿这两层的壳内年轮纹, 与树的年轮和珊瑚的年生长带非常相似^[1-3]. 年轮纹以用来确定贝体的年龄^[4-6]. 纵切面上相邻的两条年轮纹之间的高度就是贝壳在一年内生长的增量^[7,8]. 这使得贝壳的年生长速率成为一个可以准确测定的变量, 通过它可以研究环境的变化^[9]. 例如, 贝壳的生长速率就是随着温度以及食物供应变化的^[2,10]. 这些方法及研究结果已被应用于地球化学和生态学的研究, 特别是生物体对生物、污染和环境变化胁迫的响应机制^[7,11-15], 因此贝类可以作为环境及其变化的记录者.

与其他水生生物相比, 贝类作为水环境的指示生物具有显著优势. 首先, 大多数贝类寿命较长, 这

使得研究很长一段时间的环境变化成为可能^[16]; 其次, 贝类的分布极为广泛, 淡水湖泊或河流、入海口、海滨、深海和某些极端环境, 如海底火山口等^[11,17,18], 都有贝类的存在, 更重要的是同一种贝壳往往能存在于不同的环境中. 从而可以通过贝壳的年轮图案研究当前以及历史的地理气候变化^[19]. 同时, 同一贝类物种的年轮图案可以用来研究生物对不同环境的适应; 再次, 贝类的物种资源极其丰富, 仅就海洋双壳贝类而言, 就存在大约 2 万种. 通过积累单个种群贝壳年轮纹的资料, 可以研究环境因素对整个双壳贝类种群生长的影响^[6,20,21].

尽管贝壳生长速率受到环境因素的影响, 但对贝壳生长速率与环境因素的对应关系还未能建立起来. 其中一个重要原因是对贝壳壳内年轮纹的形成

机理缺乏了解. 本文在对具有特殊边缘的贝壳进行详细分析的基础上, 假设了贝壳的“跳跃式生长”模式, 用于初步解释贝壳年轮纹的形成机理.

1 材料与方法

合浦珠母贝采自广西省北海市国发珍珠养殖场. 具有特殊的生长中的边缘的贝壳采集时间是 2007 年 10 月. 在后续的超微结构的观察研究中, 有 20 个正常贝壳用于与特殊贝壳的比较研究. 这些贝壳的直径约为 4.5~6.0 cm, 重量 32~40 g. 贝壳清洗后自然干燥. 分离贝壳上只具有棱柱层的边缘部分, 同时具备棱柱层和珍珠层的部分不用于研究. 这些贝壳的边缘部分在喷金后使用扫描电子显微镜(SEM)进行观察. 对特殊贝壳边缘部位和一般贝壳的扫描电子显微镜图片进行比较分析. 对特殊贝壳边缘部位的超微结构与已报道的贝壳超微结构进行比较. 使用拉曼图谱确定贝壳边缘部位特殊的生长带中层状结构中晶体的晶型.

2 结果

通过扫描电子显微镜发现, 一个贝壳边缘成熟的棱柱层外围还存在一个特殊的带状区域(图 1(A)和(B)). 贝壳边缘特殊区域的显著特点是空间非常狭窄, 整个带状区域最宽处约 1 mm. 新形成的棱柱层与已报道的棱柱层结构具有很多共同的特征. 每一个棱柱都被柱间有机鞘包裹(图 1(B)). 在贝壳最外缘发现了中空的有机鞘, 这些有机鞘存在于特殊区域凹进来的部位(图 1(A)和(B), 白色箭头). 紧邻中空有机鞘的是棱柱层, 通过与一般的已经成熟的棱柱层表面(图 2(A))的比较可见, 这些棱柱层的单个棱柱的表面凸起, 并且呈层状同心图案, 而一般棱柱层的表面是平整的.

在该特殊带状区域, 同时还存在层状结构. 对其晶体的拉曼光谱分析表明, 在 1085^{-1} cm 有显著的特征峰, 表明该层是由文石晶体组成, 而在一般贝壳的边缘, 则只会出现方解石晶体组成的棱柱层. 进一步观察可以发现, 其与珍珠层的断面非常相像(图 1(D))^[22], 表明这些层状结构是在贝壳边缘形成的珍珠层. 与珍珠层断面相比较, 该层珍珠层线条更为柔和(图 1(A)), 且每生长到一定阶段, 有一些珍珠层缩进了晶体生长表面, 这一现象呈规律性分布.

此外, 还存在两个有机层. 第一个有机层是覆盖文石层的层, 是贝壳最里面的结构(图 1(A)). 从裸露的生长带到成熟的棱柱层(图 2), 均被这层有机层覆盖. 观察到这层有机层与成熟棱柱层的转换带, 离贝壳的边缘大约 8 mm. 同时, 转换带的形成过程也是该有机层的生长过程. 在最初形成阶段, 棱柱层柱间有机鞘隆起(图 2(B)), 有机质在其上堆积, 但已经不能指导棱柱层的正常生长. 当有机基质继续增加时, 向棱柱的中心生长(图 2(C)). 该过程是持续的, 且在其间未发现方解石棱柱也伴随生长. 有机基质覆盖棱柱表面后, 在开始阶段可以看到隆起的柱间有机鞘的痕迹(图 2(D)), 随着有机层的增厚及最终形成, 这些痕迹消失(图 2(E)). 另外一层有机层是在棱柱层的上方形成的一层有机层(图 1(B)和(E)). 该有机层覆盖棱柱层的表面, 在其上很快生长成厚厚的一层层状结构.

在一般贝壳的内表面, 边缘是由棱柱层(图 1(C))和未在电子显微镜图片上显示的角质层组成的, 比特殊贝壳的边缘部分简单, 并且都是成熟的结构, 未发现生长中的结构. 在余下的 20 个贝壳中, 多层的特殊边缘没有再出现.

3 讨论

3.1 特殊贝壳的边缘部位与一般贝壳在超微结构上的差异

通过观察发现, 生长带由 5 层结构组成, 即由角质层、棱柱层、珍珠质-棱柱转换层、珍珠层和覆盖珍珠层的有机层组成. 它组成了贝壳生长的前沿, 与一般贝壳的超微结构相比, 其本身的超微结构具有非常特殊的性质.

过去, 一直认为棱柱层的柱间有机鞘是由于棱柱生长的挤压造成的^[23,24]. 该观点认为, 柱间有机鞘不是预先形成的, 组成柱间有机鞘的有机基质随着 CaCO_3 一起沉积到角质层的表面, CaCO_3 形成方解石棱柱, 而有机基质则处于方解石的周围. 随着棱柱的生长, 当这些棱柱彼此互相靠近时发生晶体生长的竞争性抑制作用, 不仅原有的方解石棱柱的生长受到抑制, 这种抑制作用导致的挤压使得包裹棱柱的有机基质形成柱间有机鞘. 近年来, 形成一种新的观点, 最初沉积到角质层表面的应该是有机基质, 这些有机基质自组装形成柱间有机鞘, 然后方解石在其中

生长, 在棱柱层的连续生长过程中, 方解石的竞争性生长仅仅导致了某些棱柱在贝壳纵切面上的消失^[35]. 尽管在生物矿化过程中有机基质进行自组装的过程是被广泛接受的观点, 但中空的有机鞘很少能被观察并记录下来. 在贝壳边缘发现的生长带中, 发现了中空的有机鞘, 随后方解石在其中快速生长, 并最终形成棱柱层. 由有机鞘所处的特殊位置可以推测这些有机鞘不是海水腐蚀的结果, 因为海水应该先腐蚀边缘

凸出的部位. 所以这些有机鞘是由有机基质在角质层自我组装形成的, 外套膜分泌生物大分子到角质层上, 这些生物大分子发生自组装, 先形成大的有机鞘, 然后再分成单个棱柱生长所需的独立有机鞘.

带状边缘最奇特的现象是珍珠层出现在贝壳的最边缘, 该现象在以往的研究中未见报道. 观察发现, 生长带中的珍珠层生长具有与以前报道的生长方式不一样的特性. 生长带中的生长面比较狭窄, 很快被

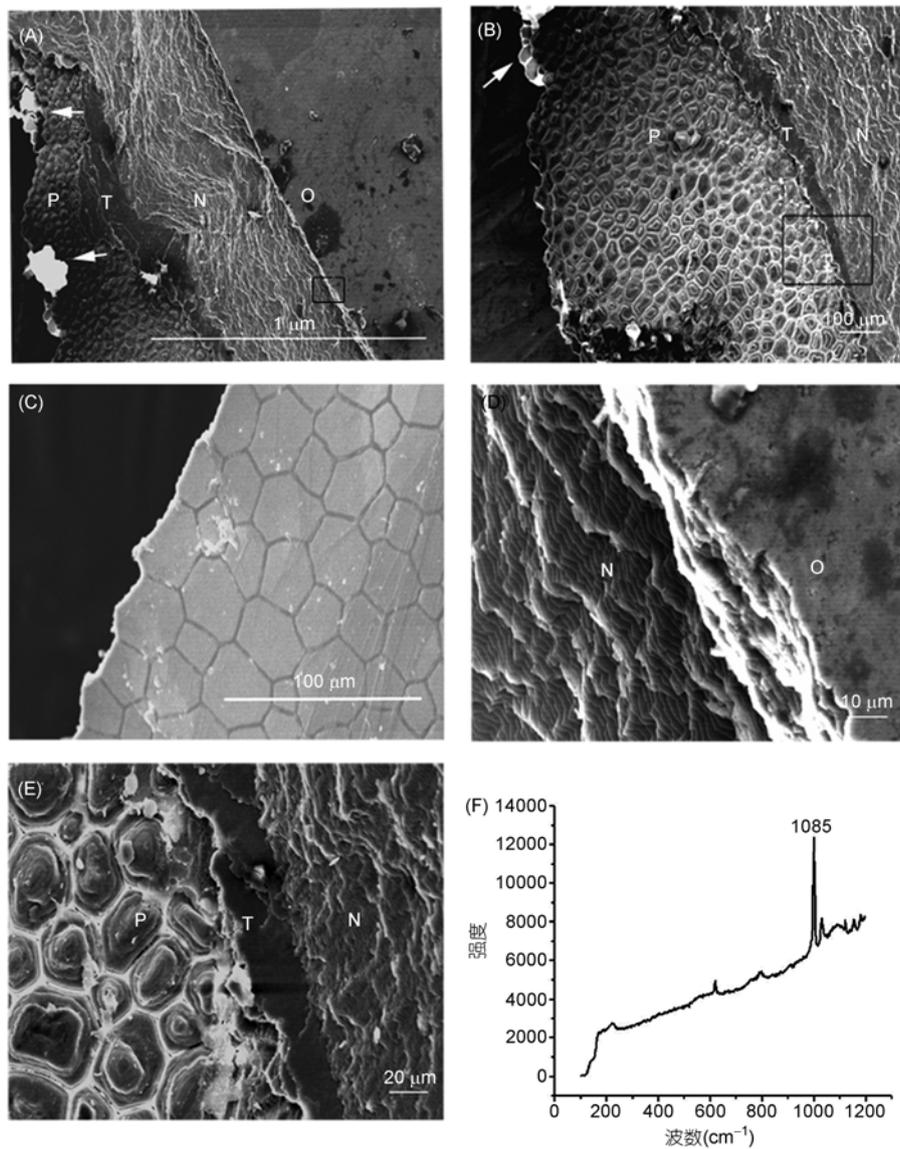


图1 特殊与一般合浦珠母贝边缘扫描电子显微镜图

(A) 正在生长中的特殊贝壳边缘带状结构. 各层生长顺序与贝壳的对应生长顺序一致; (B) 边缘带状结构中最宽的部分; (C) 一般贝壳的边缘. 仅由棱柱层组成; (D) 图(A)中方框部分的放大图; (E) 图(B)中方框部分的放大图; (F) 图(D)中层状晶体的拉曼图谱. (A)和(B)中的白箭头示中空的有机鞘. 贝壳生长方向从右向左. P: 棱柱层; T: 棱柱-珍珠转换层; N: 珍珠层; O: 覆盖珍珠的有机层

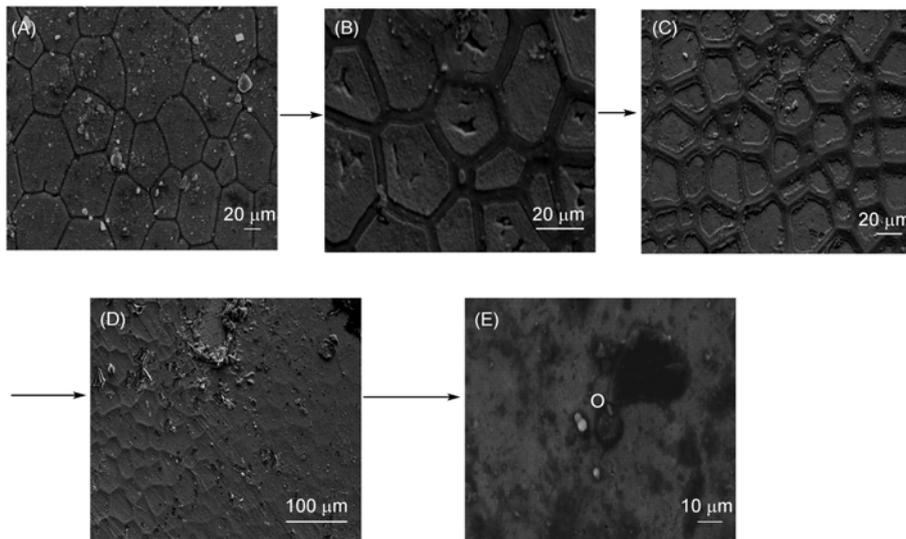


图2 扫描电子显微镜图片示覆盖特殊贝壳边缘珍珠层有机层的形成过程

(A) 离特殊贝壳边缘 8 mm 的成熟棱柱层; (B)~(E) 成熟棱柱层到有机层的转变过程. 贝壳生长方向是从左向右. O: 覆盖珍珠的有机层

一层有机层覆盖. 这使得其具有类似于珍珠断层的形貌. 进一步的超微结构观察发现, 该珍珠层在保持层状生长的同时, 每生长一定数量的片层后会相对于晶体生长前沿的缩回现象. 这种缩回现象是有序的, 从而在整体形貌上表现出明显的层状特性. 这种生长方式称为“复合梯状生长”(图 3(A)). 而在以前的报道中, 珍珠层生长的层间转折是平缓的, 一层接着一层生长, 称为“简单的梯状生长”(图 3(B))^[26]. 尽管采用这两种生长方式的珍珠层在形貌上具有不同的特点, 但它们在本质上是相同的, 都是一种砌墙式的生长, 珍珠层小片的成核位点在不同小片的结合部, 形成交错致密的结构. 新的一层在旧的珍珠层上生长, 同时不管是后形成的珍珠层还是新形成的珍珠层都同时处于生长状态, 呈梯状生长, 从而在整体上呈步进式图案(图 3(C)). 复合式的梯状生长只是珍珠层在生长带中梯状生长的一种特殊的表现形式. 但这种生长与简单梯状生长相比, 具有显著的生长优势. 当高度(h)相同时, 前者的生长面宽度(b_1)远远小于后者的生长面宽度(b_2). 这使得复合式生长的晶体生长比较集中, 更容易快速生长, 与生长带的快速生长特性吻合, 同时使得形成的珍珠层更为致密和坚固.

第一层有机层, 即覆盖珍珠层的有机层在贝壳的其他区域以及其他一般贝壳中都未发现, 所以它应是用来保护珍珠层的一层特殊结构. 该有机层的

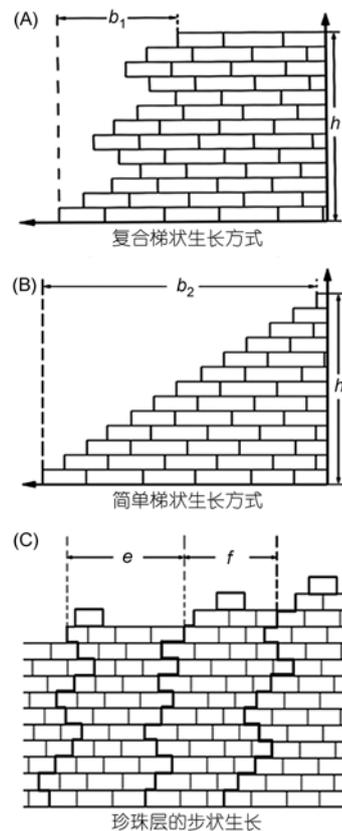


图3 两种珍珠层的生长模式

(A) 复合梯状生长方式, 存在于特殊贝壳的边缘; (B) 简单梯状生长方式, 一般贝壳珍珠层的生长方式; (C) 特殊贝壳的边缘珍珠层形成步进式生长示意图

生长方向与贝壳的生长方向相反. 棱柱层与珍珠层之间的有机夹层与一般贝壳中棱柱-珍珠转换层相似, 同时具有相同的作用: 它们都提供了珍珠层生长的起始界面. 所以尽管形貌上存在差异, 该有机夹层应为贝壳的正常结构.

特殊贝壳边缘部位超微结构上的所有特点都表明, 特殊贝壳的边缘处于快速生长中. 中空的有机鞘很快就被方解石棱柱填充, 而新形成的棱柱层的表面是隆起时就已被有机层覆盖, 没有转变为成熟的棱柱层那样平坦的表面. 覆盖棱柱层的有机层上生长珍珠层, 珍珠层不仅生长策略奇特, 生长面狭窄, 缩短了生长时间. 同时, 也未观察到文石小片的成核, 以及文石小片由小长大的过程, 表现了快速生长的特点. 所以生长带处于快速生长中, 当生长带生长结束后, 珍珠层应该覆盖在生长带上.

3.2 双壳贝类贝壳年轮纹的可能性形成机理

生长带快速生长的特点可以解释生长带中的棱柱层与珍珠层的结构特征与一般贝壳的棱柱层和珍珠层的结构特征存在差异的原因. 但是不能解释以下的问题: 为什么珍珠层能够在贝壳的边缘生长以及生长带是怎样形成的? 为了解释这种异常, 提出了贝壳的“跳跃式生长”的概念, 用来解释特殊的生长带的形成原因和一般贝壳中年生长线的形成机理. 外套膜分泌生物大分子控制贝壳的形成, 外套膜不同的区域专门负责棱柱层和珍珠层的形成^[27]. 外套膜的中心区分泌的有机基质负责珍珠层的生长, 而外套膜边缘区分泌的有机基质则负责棱柱层的生长(图 4(A)), 所以当外套膜相对于贝壳的位置不发生变化时, 贝壳边缘不可能有珍珠层的生长, 而且珍珠层应该是覆盖在成熟的棱柱层上. 但是生长带最奇特的地方在于在成熟的棱柱层的外面, 贝壳的边缘形成了棱柱层. 最可能导致这一现象的原因是外套膜相对于贝壳的位置发生了改变, 尽管看起来这在自然界是不可能发生的现象.

提出以下假设来解释特殊贝壳和年轮线形成的原因. 假设贝壳的生长速度并不总是与外套膜的生长速度协调一致的, 这是因为环境因素首先作用于外套膜, 当外套膜产生变化时, 贝壳的生长才会发生变化. 因此当环境因素发生变化时, 贝壳对环境变化的响应与外套膜相比存在滞后性. 同时外套膜自身的生长也具有区域性特点, 外套膜中心区细胞的增

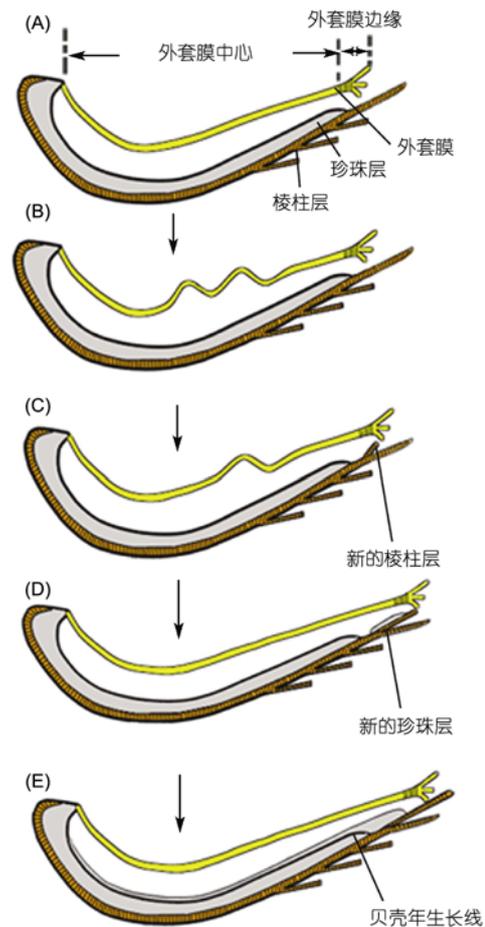


图 4 贝壳跳跃式生长和年轮线的形成

(A) 合浦珠母贝外套膜和贝壳相对位置示意图; (B) 外套膜过度生长时发生折叠; (C) 外套膜前移, 新的棱柱在贝壳边缘产生; (D) 分泌珍珠质的外套膜覆盖棱柱层, 具有多层特殊结构的贝壳特殊边缘形成; (E) 新的珍珠层覆盖边缘区域和原有的珍珠层, 年轮纹形成

殖速度远远快于边缘区^[28]. 当一年中温度高时, 外套膜生长较快, 温度转冷时, 外套膜与贝壳的生长变得不协调. 首先外套膜的中心区存在过度生长, 而贝壳的生长不能跟上, 造成了外套膜的折叠(图 4(B)). 所以当这种现象发生时, 外套膜和贝壳发生了一系列急剧的变化(图 4(C)和(D)), 以使外套膜的生长和贝壳的生长重新一致. 当外套膜发生折叠时, 它会向贝壳的边缘急剧伸展(图 4(C)), 这样外套膜分别负责珍珠层生长和棱柱层生长的区域相对于贝壳的位置就发生了改变, 有一部分负责珍珠层生长的外套膜覆盖在棱柱层上. 贝壳新的生长点相对于原有生长点发生了在贝壳生长方向上的前移, 这种生长的转变

是突然和不连续的,所以把它叫作“跳跃式生长”。当外套膜相对于贝壳的位置发生改变时,贝壳的正常生长被打断,但外套膜不会停止分泌有机基质,只不过新分泌的有机基质不能正确指导微观结构的生长。由于外套膜的前移,新的棱柱层在贝壳的边缘重新形成(图 4(C))。因为一部分指导珍珠层生长的外套膜区域覆盖了棱柱层,所以新的珍珠层带在新形成的棱柱层上形成(图 4(D)),这些珍珠层带与贝壳原有的珍珠层在这一阶段是不连续的。在该过程中,特殊贝壳的边缘区域形成了(图 4(E)),它同时具备棱柱层和珍珠层,处于贝壳的边缘。同时,贝壳其他区域的棱柱层和珍珠层生长也变得不连续,随着贝壳和外套膜的生长重新变得一致,新的珍珠层直接覆盖棱柱层和旧的珍珠层。这种状态持续到外套膜和贝壳的生长重新变得协调起来。这样,在微观结构上,贝壳的生长变得不连续。这种不连续性造成了贝壳纵切面上的年轮线的形成,而旧有的棱柱层表面和珍珠层表面就是贝壳年生长线的位置。因为晶体结构的矿化表面发生了改变,沉积的生物大分子不能继续指导生物矿化的过程,从而发生有机基质的堆积。

以往的研究发现,贝壳纵切面上,年轮纹所处的位置有机基质的含量高于贝壳的其他位置^[29]。覆盖特殊贝壳边缘中珍珠层有机层的形成能够解释这一现象,堆积的有机基质的最终形态就和覆盖特殊贝壳边缘珍珠层的有机层类似。多余的不能指导矿化

正常进行的有机基质堆积在棱柱层表面,形成了有机层。当外套膜继续分泌有机基质时,它将会覆盖旧有的棱柱层和珍珠层,从而形成主要由有机基质组成的年生长线。所以,外套膜和贝壳生长的不一致导致了贝壳的跳跃式生长,而不同季节和外套膜不同区域的细胞增殖速率则是贝壳出现跳跃式生长的生物学原因。年轮纹是由贝壳的跳跃式生长引起的超微结构上的不连续性造成的。

本实验提出的这一可能性机理在外套膜和贝壳的年轮线之间提供了联系的纽带。要想充分理解水生态环境中环境因素与有机体之间胁迫与响应的关系,就贝类研究而言,需要各个环境因素对贝类生长速率的作用效果可以测量^[9]。需要在贝类的软体部和硬体部之间建立联系,尤其是软体部如何影响硬体部。以往的研究集中在贝壳上,然而贝壳除了本身提供生长速率的参数外,提供其他可供实时测量的参数很困难。但软体部则可以提供很多可以实时监测的变量,如基因表达、蛋白分泌、酶的活性以及细胞分裂,这些可以用来检测外套膜的变化。最近科学家们开始研究通过检测蛋白合成是否可以监测贝的生长速率^[17]。通过研究外套膜在贝类生长和生长发生变化时的各项性质的变化,外套膜与外界环境一对一的联系有望首先建立起来。因为这些影响外套膜的因素同时也是影响贝壳生长的因素,所以贝壳的年生长速率与外界环境的对应关系有望被建立。

参考文献

- Emiliani C, Hudson J H, Shinn J A, et al. Oxygen and carbon isotopic growth record in a reef coral from the Florida Keys and a deep-sea coral from Blake Plateau. *Science*, 1978, 202: 627-629
- Jones D S. Annual growth increments in shells of *spisula solidissima* record marine temperature variability. *Science*, 1981, 211: 165-167
- Abele D, Brey T, Philipp E. Bivalve models of aging and the determination of molluscan lifespans. *Exp Gerontol*, 2009, 44: 307-315
- Arneri E, Giannetti G, Antolini B. Age determination and growth of *Venus verrucosa* L. (Bivalvia: Veneridae) in the southern Adriatic and the Aegean Sea. *Fish Res*, 1998, 38: 193-198
- Sejr M K, Jensen K T, Rysgaard S. Annual growth bands in the bivalve *Hiatella arctica* validated by a mark-recapture study in NE Greenland. *Polar Biol*, 2002, 25: 794-796
- Moura P, Gaspar M B, Monteiro C C. Age determination and growth rate of a *Callista chione* population from the southwestern coast of Portugal. *Aquat Bio*, 2009, 5: 97-106
- Jones D S. Annual cycle of Shell growth Increment formation in two continental shelf bivalves and its paleoecologic significance. *Paleobiology*, 1980, 6: 331-340
- Rhoads D C, Lutz R A, Revelas E C, et al. Growth of bivalves at deep-sea hydrothermal vents along the galápagos rift. *Science*, 1981, 214: 911-913
- Richardson C A. Molluscs as archives of environmental change. In: *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. Taylor Francis: Science Press, 2001. 103-164
- Nakaoka M, Matsui S. Annual variation in the growth rate of *Yoldia notabilis* (Bivalvia: Nuculanidae) in Otsuchi Bay, northeastern Japan,

- analyzed using shell microgrowth patterns. *Mar Bio*, 1994, 119: 397–404
- 11 Schöne B R, Flessa D L, Dettman D H, et al. Upstream dams and downstream clams: growth rates of bivalve mollusks unveil impact of river management on estuarine ecosystems (Colorado River Delta, Mexico). *Estuar Coast Shelf S*, 2003, 58: 715–726
 - 12 Helama S, Schöne B R, Kirchhefer A J, et al. Compound response of marine and terrestrial ecosystems to varying climate: pre-anthropogenic perspective from bivalve shell growth increments and tree-rings. *Mar Environ Res*, 2007, 63: 185–199
 - 13 Banni M, Bouraoui Z, Ghedira J, et al. Seasonal variation of oxidative stress biomarkers in clams *Ruditapes decussatus* sampled from Tunisian coastal areas. *Environ Monit Assess*, 2008, 155: 119–128
 - 14 Kanazawa T, Sato S. Environmental and physiological controls on shell microgrowth pattern of *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) from Japan. *J Mollusc Stud*, 2008, 74: 89–95
 - 15 Carroll M L, Johnson B J, Henkes G A, et al. Bivalves as indicators of environmental variation and potential anthropogenic impacts in the southern Barents Sea. *Mar Pollut Bull*, 2009, 59: 193–206
 - 16 Sejr M K, Sand M K, Jensen K T, et al. Growth and production of *Hiatella arctica* (Bivalvia) in a high-Arctic fjord (Young Sound, Northeast Greenland). *Mar Ecol Prog Ser*, 2002, 244: 163–169
 - 17 Norkko J, Norkko A, Thrush S F, et al. Detecting growth under environmental extremes: spatial and temporal patterns in nucleic acid ratios in two Antarctic bivalves. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2005, 326: 144–156
 - 18 Schöne B R, Giere O. Growth increments and stable isotope variation in shells of the deep-sea hydrothermal vent bivalve mollusk *Bathymodiolus brevior* from the North Fiji Basin, Pacific Ocean. *Deep-Sea Res Pt I*, 2005, 52: 1896–1910
 - 19 Hallmann N, Burchell M, Schöne B R, et al. High-resolution sclerochronological analysis of the bivalve mollusk *Saxidomus gigantea* from Alaska and British Columbia: techniques for revealing environmental archives and archaeological seasonality. *J Archaeol Sci*, 2009, 36: 2353–2364
 - 20 Richardson C A, Seed R, Naylor E. Use of internal growth band for measuring individual and population growth rates in *Mytilus edulis* from offshore production platforms. *Mar Ecol Prog Ser*, 1990, 66: 259–265
 - 21 Abele D, Stroahl U, Brey T, et al. Imperceptible senescence: ageing in the ocean quahog *Arctica islandica*. *Free Radic Res*, 2008, 42: 474–480
 - 22 Nudelman F, Gotliv B A, Addadi L, et al. Mollusk shell formation: mapping the distribution of organic matrix components underlying a single aragonitic tablet in nacre. *J Struct Biol*, 2006, 153: 176–187
 - 23 Wise S. Microarchitecture and mode of formation of nacre (mother-of-pearl) in pelecypods, gastropods and cephalopods. *Eclogae Geol*, 1970, 63: 775–797
 - 24 Erben H K, Watabe N. Crystal formation and growth in bivalve nacre. *Nature*, 1974, 248: 128–130
 - 25 Checa A G, Rodríguez-Navarro A B, Esteban-Delgado F J. The nature and formation of calcitic columnar prismatic shell layers in pteriomorphian bivalves. *Biomaterials*, 2005, 26: 6404–6414
 - 26 Checa A G, Rodríguez-Navarro A. Self-organisation of nacre in the shells of Pterioidea (Bivalvia: Mollusca). *Biomaterials*, 2005, 26: 1071–1079
 - 27 Sudo S, Fujikawa T, Nagakura T, et al. Structures of mollusc shell framework proteins. *Nature*, 1997, 387: 563–556
 - 28 Fang Z, Feng Q, Chi Y, et al. Investigation of cell proliferation and differentiation in the mantle of *Pinctada fucata* (Bivalve, Mollusca). *Mar Biol*, 2008, 153: 745–754
 - 29 House M R, Farrow G E. Daily growth banding in the shell of the cockle, *Cardium edule*. *Nature*, 1968, 219: 1384–1386