

3rd Meeting of the I.C.E.S. Working Group on Mariculture, Brest, France, May 10-13, 1977.
Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4 : 131-145.

CROISSANCE LARVAIRE CONTROLÉE DE *PENAEUS JAPONICUS* BATE
ENZYMES DIGESTIVES ET CHANGEMENTS DE RÉGIMES ALIMENTAIRES

par

Annie LAUBIER-BONICHON⁺, Alain VAN WORMHOUDT⁺⁺ et Daniel SELLOS⁺⁺

⁺ Centre Océanologique de Bretagne, B.P. 337, 29273 Brest Cédex, France

⁺⁺ Laboratoire de Biologie Marine du Collège de France, 29210 Concarneau

ABSTRACT.

The larval and postlarval development of the shrimp Penaeus japonicus has been studied on the basis of the evolution of nucleic acids, of proteinic compounds, and of digestive enzymes. Cell multiplication was assayed by tracing the evolution of the amount of deoxyribonucleic acid (DNA); this multiplication was found to be high during nauplius stages. Evolution in time of ribonucleic acid (RNA) was compared with evolution of dry weight and proteins; the amount of RNA rises considerably during stage zoe. Thus it is thought that during stages nauplius and mysis, cellular hyperplasia takes place, while cellular hypertrophy would characterize stage zoe.

The development of a new stock of digestive enzymes takes place during the zoe stage. The variations of amylasic (A) and proteasic (P) activities as well as their ratio (A/P) tend to show that the diet is predominantly based on glucids at the end of the zoea stage and at the beginning of the mysis one. The shrimps become more carnivorous later on.

RESUME.

Le développement de la crevette Peneide Penaeus japonicus Bate, dans les premières phases de sa vie larvaire et post-larvaire a été étudié en suivant l'évolution des acides nucléiques, des protéines et des enzymes digestives. La multiplication cellulaire estimée par le taux de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est importante durant la phase nauplius. Pour l'acide ribonucléique (ARN), son évolution est comparée à celle du poids sec et des protéines; une augmentation importante du taux d'ARN a lieu au stade zoé. On en conclut que les phases nauplius et mysis sont caractérisées par une hyperplasie, alors que la phase zoé est marquée par une hypertrophie cellulaire.

La mise en place d'un nouveau stock d'enzymes digestives s'effectue au cours du stade zoé. L'étude des activités amylasiques (A) et protéasique (P) et surtout de leur rapport (A/P) aboutit à la mise en évidence d'une prépondérance d'un régime glucidique à la fin de la phase zoé et au début de la phase mysis, le régime devenant plus carnivore par la suite.

.../...

INTRODUCTION.

Depuis le mois de juillet 1933, où pour la première fois au monde est obtenue la ponte et l'éclosion en bassin d'élevage des larves de la Crevette Impériale *Penaeus japonicus* par FUJINAGA (1935), les étapes jalonnant les progrès dans l'histoire de l'élevage de cette espèce se sont multipliées. Les difficultés rencontrées dans les élevages larvaires ont, pas à pas, été surmontées par cet auteur : les huit années qui suivent la date de la première ponte sont caractérisées par les difficultés rencontrées pour nourrir les larves zoé, résolues seulement en 1941 et 1942 par l'utilisation d'une diatomée cultivée, *Skeletonema costatum*. La guerre interrompt les recherches, et ce n'est qu'en 1956 que la seconde étape, celle qui permet l'élevage avec un pourcentage significatif de réussite des mysis et des post-larves, trouve sa résolution par l'apport de nauplii d'*Artemia* comme aliment principal. Il aura fallu bien des années pour qu'un régime alimentaire convenable soit appréhendé (FUJINAGA, 1942, 1969).

Depuis cette période, les recherches ont eu pour but de trouver des aliments de substitution plus économiques que l'aliment vivant, soit sous forme d'aliment naturel, chair de poisson ou de mollusque broyés, soit en partant de la constitution d'une alimentation composée. Il nous est apparu que l'étude de l'équipement enzymatique digestif pourrait être une approche intéressante permettant l'adéquation d'un régime de nutrition des larves et des juvéniles adapté à l'évolution de ces enzymes, ceci permettant sans doute une meilleure croissance. Les taux de l'ADN total et de l'ARN total, ainsi que leurs variations réciproques, ont été choisis comme indices quantitatifs de la croissance et des potentialités de synthèse. Les recherches présentées ici représentent une étude préliminaire de ce problème.

MATERIEL ET METHODES.

Matériel biologique.

Les larves sont issues de pontes de femelles de *Penaeus japonicus* dont la maturation sexuelle a été induite artificiellement en milieu contrôlé (LAUBIER-BONICHON, 1975 ; LAUBIER-BONICHON et LAUBIER, 1976), les facteurs d'induction de cette maturation étant des facteurs écologiques à l'exclusion de tout autre procédé (injection d'hormones, épédonculations). Dans ces conditions, la fécondation des oeufs et l'éclosion des nauplii est totale, et l'on a la certitude d'éliminer ainsi des risques d'embryogénèses monstrueuses. Les larves obtenues ont toujours été parfaitement normales. Les pontes sont émises dans les bassins même de reproduction et les oeufs s'y développent jusqu'à l'éclosion. On évite ainsi la manipulation des oeufs, qui semble néfaste au développement larvaire. Les larves sont recueillies grâce à un système de trop-plein dans un collecteur, elles sont ensuite concentrées en un volume réduit, et des échantillons au 1/10ème sont prélevés pour faire plusieurs comptages sous la loupe binoculaire en cuve de Dollfus. Les larves sont alors mises en élevage à raison d'une moyenne de 60 individus au litre en eau de mer stagnante dans des cuves de 800 litres. Les températures ont varié suivant les élevages de 22° C à 25,5° C. Les stades larvaires sont déterminés grâce aux critères morphologiques définis par FUJINAGA (1942) ; ce sont ces stades que nous avons retenus comme critères valables, l'âge à un stade donné étant fonction de deux

.../...

deux facteurs principaux, le temps et la température d'élevage. Nous avons choisi de reproduire les conditions de régime alimentaire appliquées dans les élevages pratiqués au Japon, en introduisant toutefois quelques variantes provenant du choix des algues : les larves au stade nauplius V reçoivent un apport journalier de *Monochrysis lutheri* à raison de 150 000 cellules au ml jusqu'au stade zoé I ; dès l'apparition de ce stade, on introduit chaque jour dans le bac d'élevage une culture de *Platymonas suecica*, à la concentration finale de 5 000 cellules au ml, 15 000 au stade zoé II et 20 000 ensuite. Le Rotifère *Brachionus plicatilis* est apporté à la fin de la phase zoé, et des *Artemia* fournies à partir de la phase mysis, d'abord sous forme de nauplii d'*Artemia*, puis progressivement de jeunes individus de 2 et 4 jours. Durant toute cette période, l'apport de *Platymonas* est maintenu dans le bac d'élevage. Il ne cesse que lorsque les post-larves sont nourries de moules lyophilisées broyées, au stade PL 4. Durant toutes les phases larvaires jusqu'à la post-larve 4 les élevages se déroulent en lumière constante, afin de maintenir la multiplication algale. Les changements de comportement qui apparaissent aux stades PL 3-4, où la post-larve devient benthique et change de régime, nous ont conduit à placer alors les animaux sur fond de sable et avec un éclairage discontinu.

Lors des prélèvements des échantillons, les animaux récoltés sont concentrés et comptés à la loupe, sur plusieurs échantillons au 1/10^{ème}. Ils sont alors concentrés sur un tamis, rincés à l'eau distillée, refroidis rapidement à -40° C et lyophilisés.

Méthodes d'analyses.

Trois séries de dosages ont été effectuées sur trois lots de larves différents. Les trois techniques utilisées, schématisées dans le tableau 1, sont dérivées de la méthode de SCHNEIDER (1957) d'une part, et de la méthode de SCHMIDT-THANNHAUSER (1945) d'autre part. L'intérêt du fractionnement des acides nucléiques (tableau 1, 2^{ème} méthode) où l'ARN est extrait par KOH 0,3 N et l'ADN extrait par PCA 0,5 N est de pouvoir effectuer les dosages de ces quantités séparément. Mais la procédure utilisée est plus longue et les lavages plus nombreux entraînent des pertes en ADN et en protéines (comme peut en témoigner la prise du poids sec à chaque étage). D'autre part, une certaine quantité de protéines est extraite par la potasse et nécessite un dosage supplémentaire. La technique permettant l'extraction simultanée des acides nucléiques (méthode 3) est plus rapide et les sources d'erreurs sur la détermination de la quantité d'ARN (réaction de l'orcinol avec l'ADN) sont négligeables (sauf dans le cas de dosages effectués sur les noyaux (SUTCLIFFE, 1965). La correction peut être aisément effectuée, elle n'excède jamais quelques pour-cents. Le culot obtenu après centrifugation de l'homogénéisat au tampon phosphate à pH 7 (méthode n° 1), ne permet d'obtenir que des quantités partielles d'ARN, d'ADN et de protéines (une partie étant solubilisée). Il est donc nécessaire, après dosage des enzymes digestives sur une aliquote du surnageant, de précipiter celui-ci par l'acide trichloracétique à 10 % puis d'extraire et de doser les quantités d'acides nucléiques et de protéines qui y sont présentes.

La détermination de la quantité d'ARN est effectuée par la méthode à l'orcinol de SCHNEIDER (1957), l'étalon utilisé étant de l'ARN (Fluka). La quantité d'ADN est dosée par la méthode de BURTON (1956), modification de la réaction à la diphénylamine ; l'étalon est ici de

l'ARN de thymus de veau (Sigma). Le dosage des protéines est effectué par la méthode de Folin (LOWRY et al., 1951), en utilisant l'albumine bovine pour étalon.

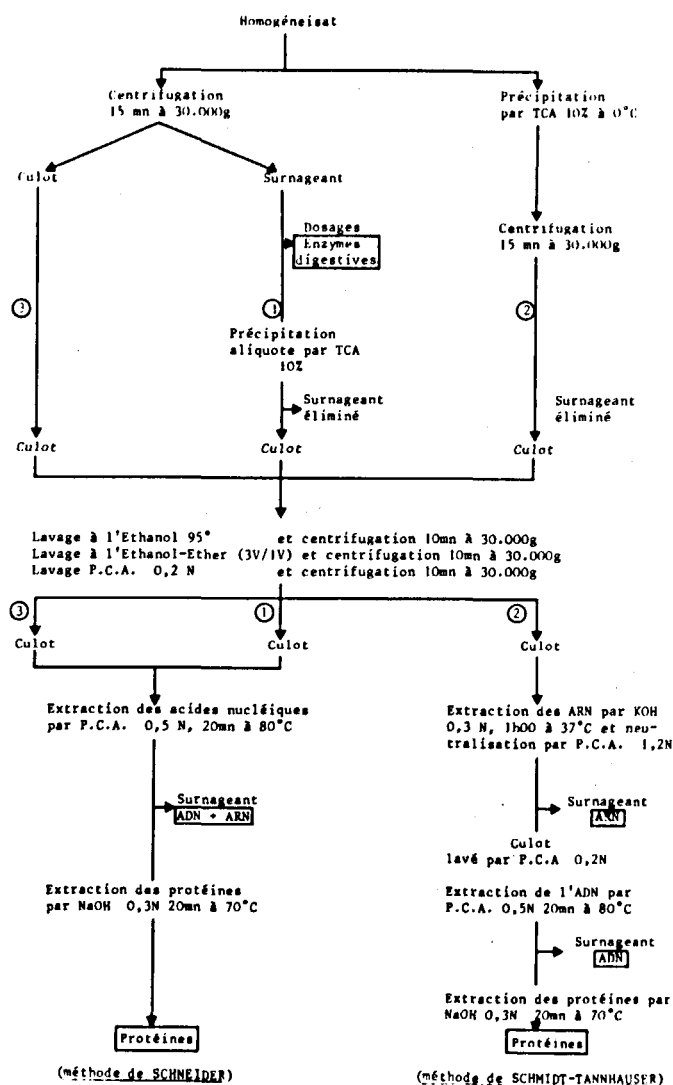


TABLEAU 1 : Séparation des acides nucléiques et préparation des extraits enzymatiques.

Les larves lyophilisées sont pesées puis broyées dans du tampon phosphate 10^{-2} M à pH 7 dans un polybroyeur en verre (Kontes Dual). Les concentrations retenues sont de 1 000 à 5 000 nauplii par ml, suivant le stade, 500 zoés, 100 à 200 mysis, 100 post-larves. Après centrifugation à 30 000 g pendant 30', le dosage de l' α -amylase en présence de glycogène (Merck) 0,66 %, de manganèse 10^{-3} M et de NaCl 10^{-2} M, s'effectue selon BERNFELD (1954), modifié .../...

sur le surnageant. Le dosage des protéases est réalisé en présence de Caséine-Yellow (Sigma) comme substrat selon CHARNEY et TOMARELLI (1947). Les protéases sont exprimées en mg de caséine hydrolysée/h à 37° C. Les amylases sont exprimées en mg de maltose libéré/10' à 37° C. Les activités sont rapportées soit au mg de protéines solubles (activité spécifique), soit au mg d'ADN.

RESULTATS.

Croissance.

Au cours des stades nauplius, le poids sec lyophilisé diminue. La croissance en poids sec s'effectue essentiellement à partir de la phase zoé (figure 1). Elle est un peu moins rapide aux stades mysis et post-larvaires.

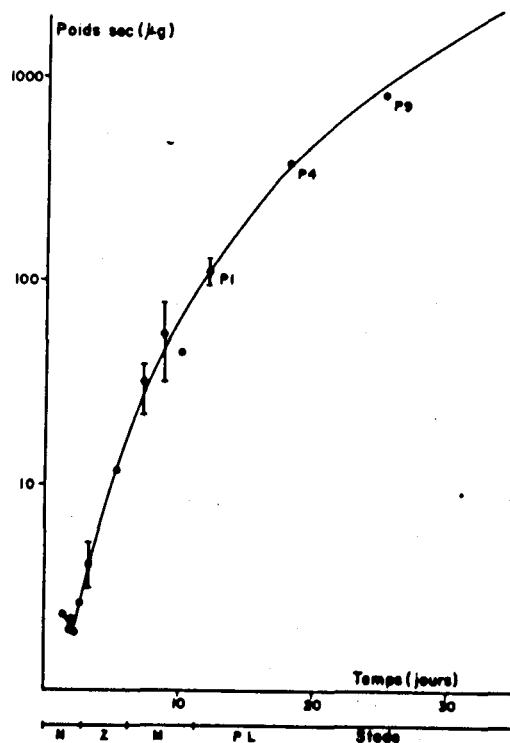


FIGURE 1 : Evolution du poids sec individuel en fonction des différents stades de développement chez Penaeus japonicus.

La relation que l'on peut établir entre la taille, mesurée sur les échantillons lyophilisés, et le poids sec lyophilisé (figure 2) fait ressortir trois grands changements morphologiques marquant deux disharmonies principales : l'une située au passage de la phase nauplius à la phase zoé, l'autre se situant au passage de la phase mysis à la phase post-larve. Pour cette dernière, des recherches ultérieures permettront sans doute de préciser le stade exact de cette disharmonie.

.../...

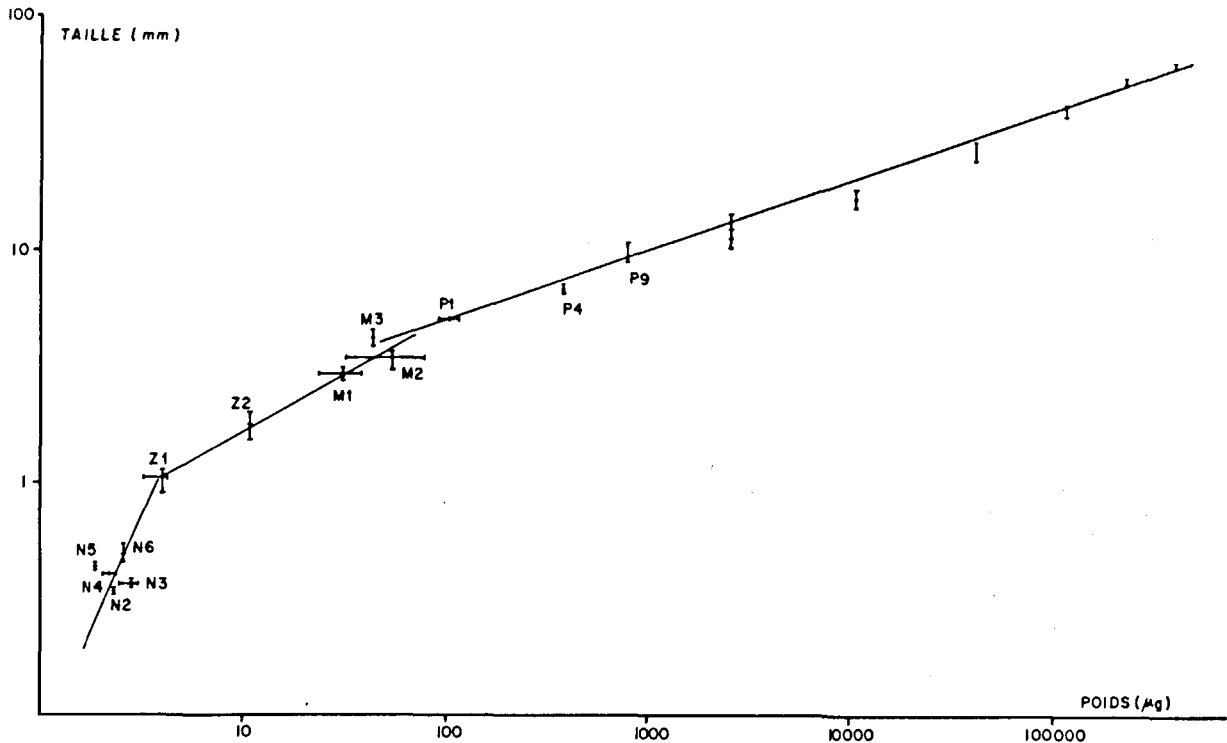


FIGURE 2 : Relation taille/poids, au cours des premiers stades du développement. La taille représente la longueur, de la zone frontale à l'extrémité des épines postérieures, jusqu'au stade zoé I ; à partir du stade zoé II, les mesures sont faites de la base du pédoncule oculaire à l'extrémité postérieure.

Les variations des teneurs en ADN, en ARN et en protéines ont été étudiées en fonction des stades. L'augmentation de la quantité d'ADN (figure 3) par individu est tout d'abord rapide durant la phase nauplius, elle se ralentit légèrement au cours des phases zoé et mysis, plus fortement à partir de la métamorphose. Pour l'ARN (figure 4), la quantité mesurée est constante durant les stades naupliens, elle augmente brutalement dès le premier stade zoé ; à partir du stade mysis I, l'augmentation du taux d'ARN est légèrement moins rapide, elle se ralentit encore à partir du premier stade post-larvaire. En ce qui concerne la quantité de protéines (figure 5), on observe une baisse de celle-ci durant la phase nauplius, puis une augmentation progressive, le schéma général ainsi tracé ayant la même allure que celui qui est donné par la courbe de poids sec (figure 1). Le rapport protéines sur poids sec varie peu en fonction des stades considérés (figure 6).

Nous avons étudié l'évolution de la concentration des acides nucléiques en fonction des stades, cette concentration étant exprimée en microgrammes d'acide nucléique par microgramme de poids sec. La concentration en ADN (figure 7) augmente au cours des stades nauplii pour atteindre son maximum au stade nauplius VI, elle diminue jusqu'au stade mysis I où elle atteint une valeur minimum, elle remonte au cours de toute la phase mysis pour atteindre un maximum au 1er stade post-larvaire ; elle diminue alors progressivement après la métamorphose.

.../...

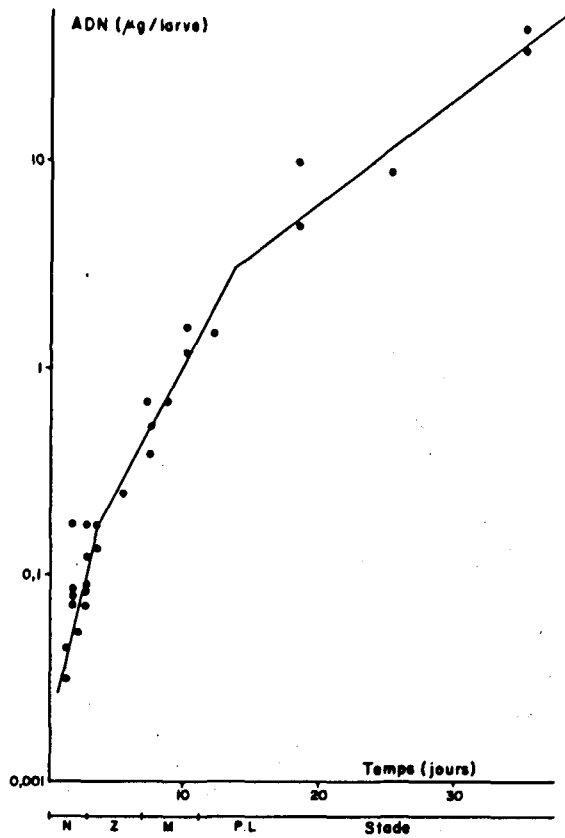


FIGURE 3 : Evolution de la teneur en ADN par individu en fonction des différents stades du développement.

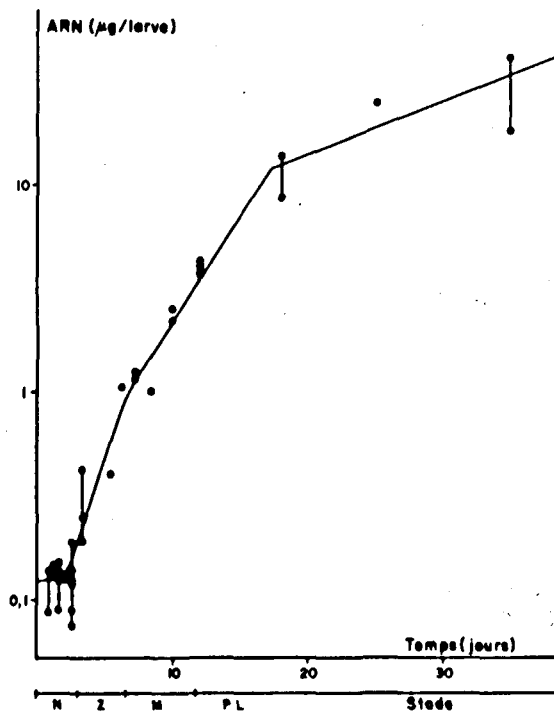


FIGURE 4 : Evolution de la teneur en ARN par individu en fonction des différents stades du développement. .../...

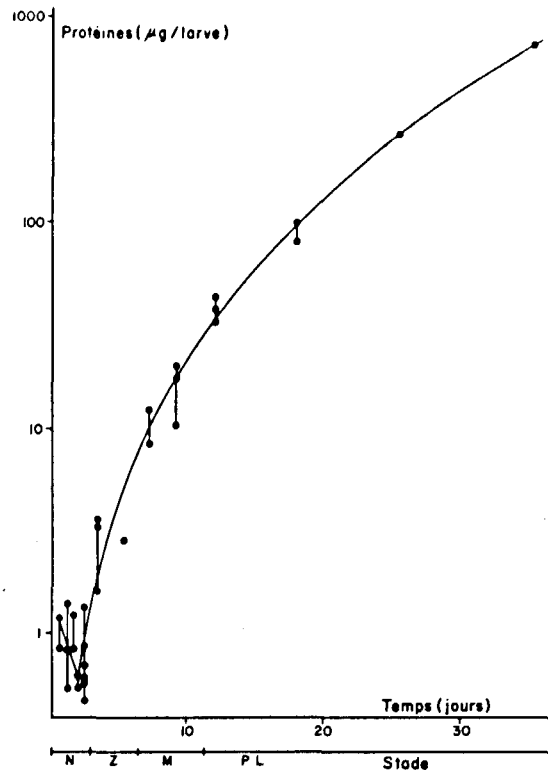


FIGURE 5 : Evolution de la teneur en protéines par individu en fonction des différents stades du développement.

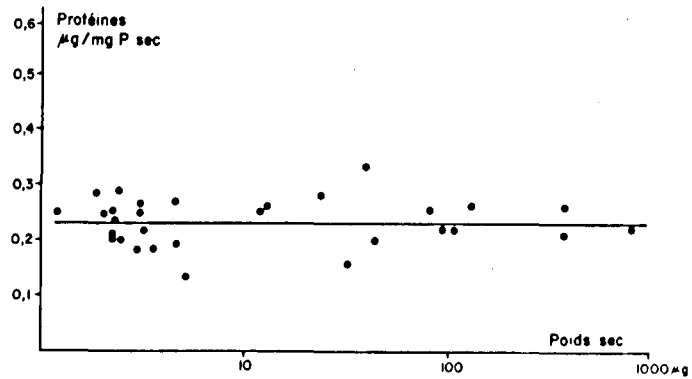


FIGURE 6 : Evolution de la concentration en protéines en fonction du poids sec individuel. La concentration est le rapport de la quantité de protéines ramenée au poids sec.

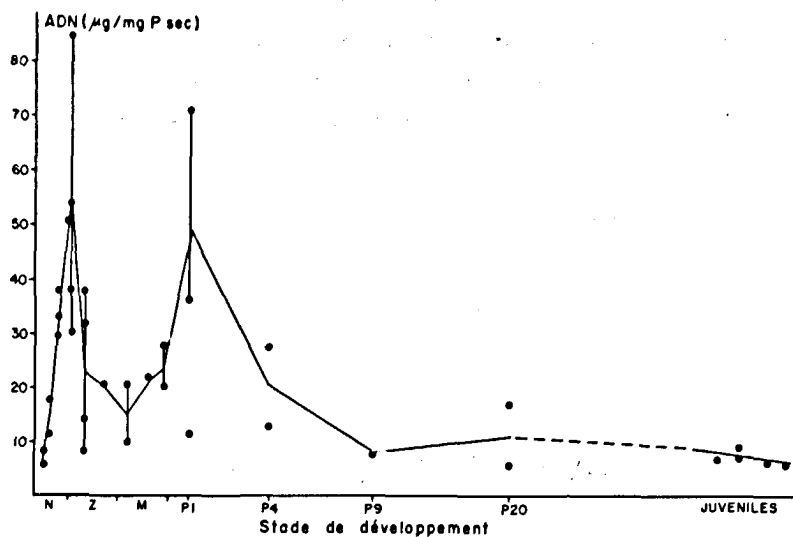


FIGURE 7 : Evolution de la concentration en ADN au cours du développement.

La concentration en ARN (figure 8) est maximale au stade nauplius VI, elle diminue progressivement au cours des stades ultérieurs, avec un second pic faible lors de la métamorphose. Les variations sont, en tout état de cause, moins importantes pour l'ARN qui varie de 30 à 90 $\mu\text{g/mg}$ de poids sec, soit un coefficient de 2,5 que pour l'ADN qui varie de 5 à 80 $\mu\text{g/mg}$ de poids sec soit un coefficient de 12,5.

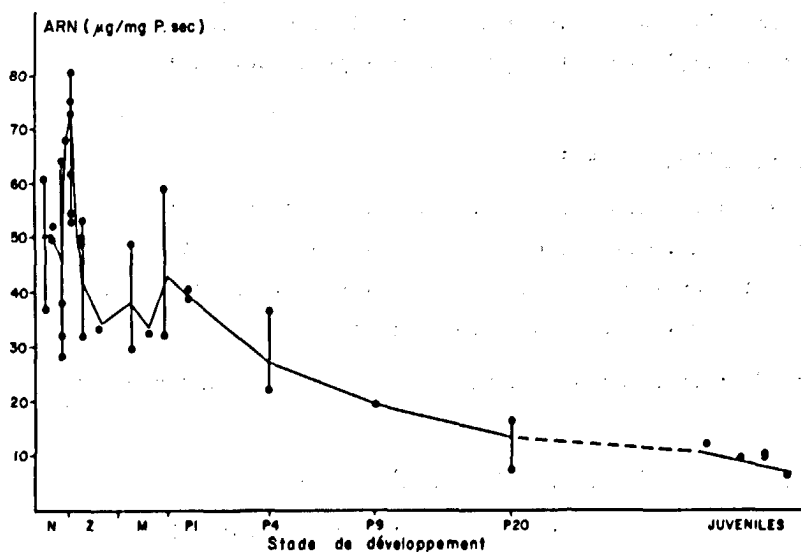


FIGURE 8 : Evolution de la concentration en ARN au cours du développement.

.../...

L'étude de l'évolution du rapport ARN/ADN (figure 9) montre que celui-ci diminue rapidement au cours des stades nauplii, ce qui traduit une synthèse plus rapide d'ADN que d'ARN. Durant la phase zoé, le rapport est faible et varie peu ; un second maximum est mis en évidence au stade mysis I, suivi par une diminution progressive et un minimum au stade post-larve I. Ceci traduit une multiplication cellulaire importante durant les phases nauplius et mysis (cf. également figure 7).

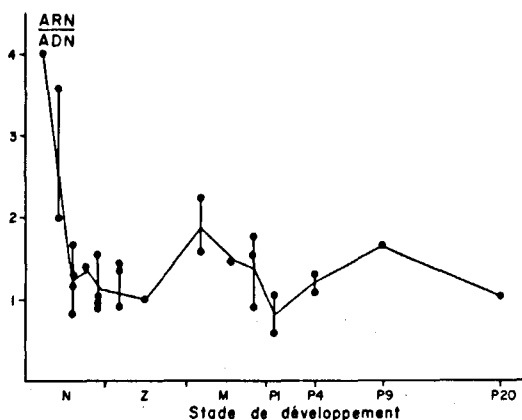


FIGURE 9 : Evolution du rapport ARN/ADN au cours du développement.

Activités enzymatiques digestives.

Activité totale par larve :

Parallèlement à l'augmentation de poids individuel, on observe une augmentation de l'activité des enzymes digestives, amylases et protéases (figure 10) à partir de la larve zoé I, les nauplii voyant leur teneur en enzyme diminuer de l'éclosion au passage à la phase zoé. L'augmentation enzymatique est très forte jusqu'au stade mysis I, puis on observe un plateau et une nouvelle augmentation au cours des stades post-larvaires. L'augmentation est plus forte pour les amylases (x15) que pour les protéases (x5).

Activité spécifique :

En ce qui concerne les amylases, l'activité spécifique reste constante au cours des stades nauplii, puis augmente progressivement au cours des stades zoé pour atteindre un maximum au cours du stade mysis I (figure 11a) ; elle diminue ensuite jusqu'au premier stade post-larvaire et remonte ensuite progressivement.

Les mêmes phénomènes sont mis en évidence pour les protéases (figure 11b).

Rapport des activités amylase/protéase :

Le rapport A/P (figure 12) est constant au cours des phases nauplius et zoé et augmente brusquement lors du passage au stade mysis I. Il s'abaisse légèrement jusqu'à la métamorphose, tout en ayant une valeur supérieure à celle calculée chez les zoés.

.../...

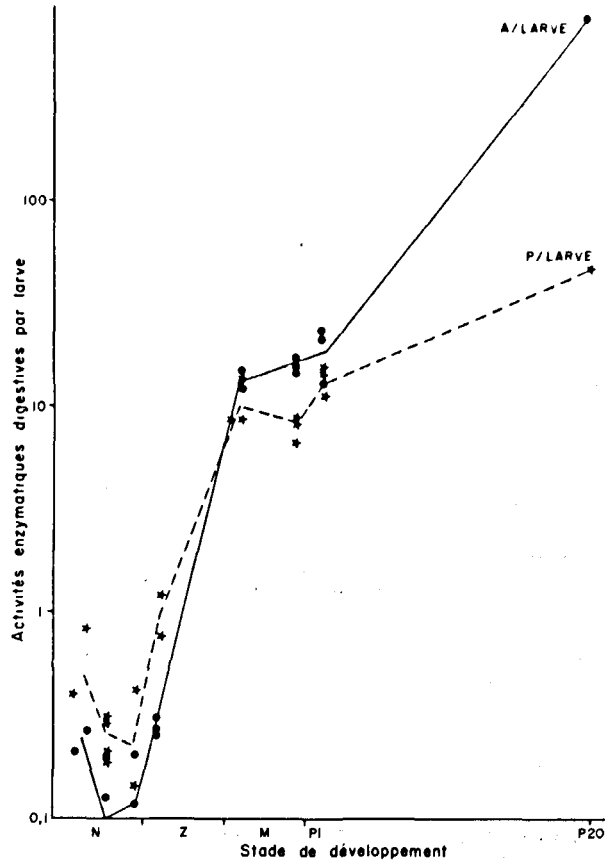


FIGURE 10 : Evolution des activités enzymatiques digestives, amylase (A) et protéase (P) au cours du développement.

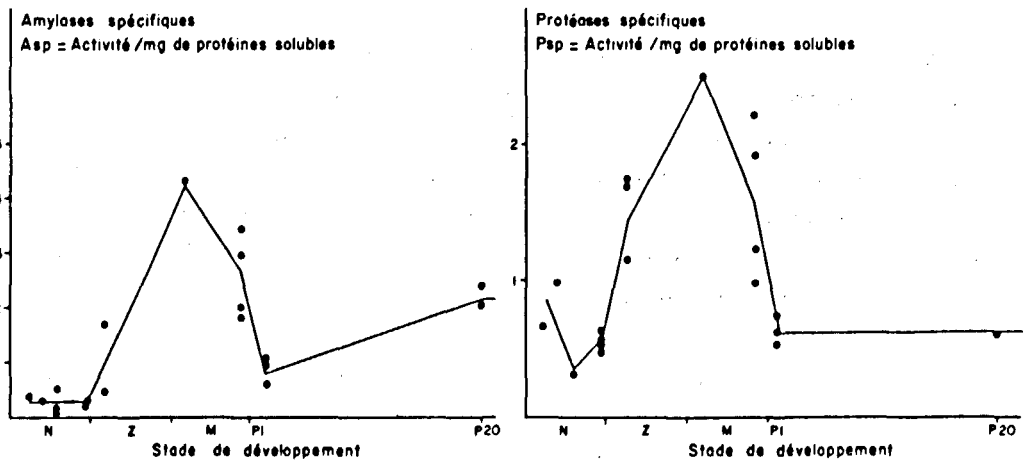


FIGURE 11 : Evolution des activités enzymatiques digestives spécifiques au cours du développement.

.../...

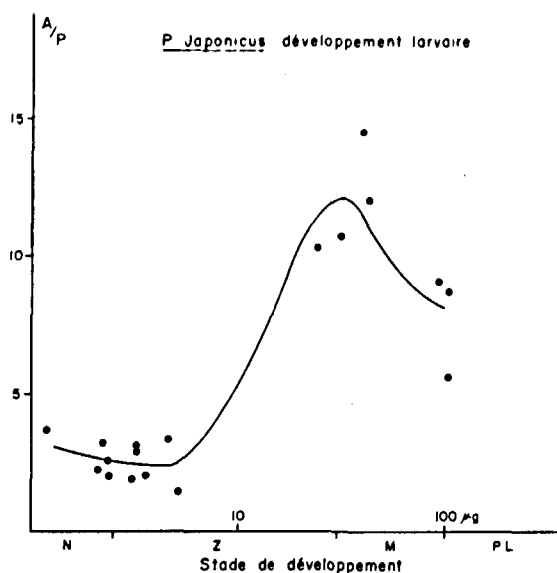


FIGURE 12 : Evolution du rapport amylase sur protéase, A/P, au cours du développement larvaire. Pour l'établissement de ce rapport, l'activité amylasique est ramenée à la même durée.

DISCUSSION.

La quantité d'ADN peut être considérée comme constante dans des cellules somatiques diploïdes et ceci, pour une espèce donnée (BOIVIN et al., 1948). Le taux d'ADN par individu est donc représentatif de l'évolution du nombre de noyaux. L'augmentation de l'ADN se poursuit tout au long de la phase de croissance étudiée et traduit l'existence d'un nombre croissant de cellules. Deux disharmonies sont observées aux stades N₆-Zoé 1 et à la métamorphose. Une période de multiplication cellulaire importante recouvre la phase nauplius, tandis qu'au niveau des phases zoé et mysis, la prolifération de cellules est plus modérée. Celle-ci se ralentit encore lors des étapes post-larvaires.

La relation qui existe entre la variation de la quantité d'ADN et la variation du poids permet d'estimer la part de la croissance due à l'accroissement du nombre de cellules et celle due à l'accroissement de la taille cellulaire. Une forte hyperplasie est observée lors des stades nauplius, et les stades zoé sont caractérisés par une forte hypertrophie, et un faible taux de multiplication cellulaire. Une hyperplasie importante reprend aux stades mysis, et se stabilise sur le début des stades post-larvaires où l'accroissement de l'ADN est voisin de l'accroissement pondéral.

L'évolution du contenu en A.R.N. peut être comparée à l'évolution du poids sec (ou des protéines). Nous constatons, sur ces courbes, un plateau aux stades naupliens, l'augmentation de ces paramètres n'apparaissent qu'à partir de la zoé 1. Nous observons une décroissance de la concentration en A.R.N. pour les différents stades larvaires. Les parties accidentées de la courbe (phase nauplius) sont dues aux variations enregistrées sur le poids des animaux.

.../...

L'influence de la mue sur la concentration en acides nucléiques (SKINNER, 1966 ; SULKIN et al., 1975) n'a pu être déterminée ici, mais les changements morphologiques importants sont cependant marqués par des ruptures de pente dans les courbes d'évolution des contenus en acides nucléiques.

Le rapport de la quantité d'A.R.N. sur la quantité d'A.D.N. (figure 9) est considéré comme un indice de l'activité métabolique cellulaire. Nous constatons que ce rapport décroît fortement lors des stades naupliens (où l'on assiste à la mise en place de l'A.D.N., et, à la stagnation des quantités d'A.R.N. et de protéines). L'activité métabolique reprend à la phase zoé, pour décroître à nouveau, et se stabiliser lors des étapes post-larvaires. Ce rapport n'est jamais inférieur à l'unité. Chez la larve de *Palaemon serratus*, CAMPILLO et al. (1975) trouvent un rapport entre 0,72 et 0,88. Cependant, le mode de développement de *P. japonicus* permet d'observer l'évolution au cours des stades naupliens (qui s'effectuent dans l'oeuf chez *P. serratus*).

L'augmentation de la teneur en enzymes digestives est à mettre en parallèle avec l'alimentation chez *Palaemon serratus* adulte : l'un d'entre nous (VAN WORMHOUDT, 1973, 1975) a mis en évidence une adaptation de la teneur en enzymes digestives, en particulier de l' α -amylase, au régime alimentaire. L'alimentation constitue ainsi un activateur et un modulateur de la bio-synthèse des enzymes digestives chez les Crustacés, comme cela a déjà été démontré dans d'autres groupes (BEN ABDELJLIL, 1964). Chez *Penaeus japonicus* au cours des stades zoé, il y a prépondérance de la faculté d'assimilation glucidique sur l'assimilation protéique (figure 10). Bien que nous ne possédions pas les données sur la teneur en glucides, l'examen de la teneur en pour-cent de poids sec des différents aliments que l'on fournit aux larves et aux post-larves donne à partir de la moyenne pour les protéines une indication globale, 30 % de protéines chez *Platymonas* et 33 % chez *Isochrysis*, contre 50 % de protéines chez *Brachionus* et de 54 à 62 % chez *Artemia*, la concentration chez cette espèce augmentant au cours du développement du Branchiopode (PERSON, communication personnelle, cf. aussi BÉNIJTS et al., 1975). A la fin du stade zoé, le rapport A/P est maximum. Au cours de la phase mysis, les activités enzymatiques digestives varient peu, on observe une baisse du rapport A/P qui est minimal à la métamorphose. Le taux d'amylase élevé pourrait révéler les potentialités omnivores des mysis et des premières postlarves avec une forte tendance carnivore.

Ainsi, si l'on fait le rapprochement avec *Palaemon serratus*, espèce considérée comme ayant un régime omnivore (VAN WORMHOUDT, 1974), les activités spécifiques protéasiques sont plus fortes chez *P. japonicus* (15x), de même que les activités spécifiques amylasiques (6x), ceci pour les stades post-larvaires comparés chez les deux espèces.

Les variations d'activité enzymatiques reflètent bien les changements d'alimentation exigés par l'animal au cours de son développement. D'autres études sont envisagées afin de préciser les limites des possibilités d'adaptation à divers régimes, et les modifications du stock enzymatique apparues entre le nauplius et la postlarve. Des résultats partiels permettent de mettre en évidence une augmentation de l'activité de certaines enzymes (esterases, α -glucosidase, α -galactosidase), une réduction de l'activité en ce qui concerne la trypsine et la β -glucuronidase, une baisse des α -fucosidases et des α -mannosidases. .../...

BIBLIOGRAPHIE.

- BEN ABDELJLIL, A. et P. DESNUELLE, 1964. Sur l'adaptation des enzymes exocrines du pancréas à la composition du régime. Biochim. Biophys. Acta, 81 : 136-149.
- BENIJTS, F., E. VAN WOORDEN and P. SORGELOOS, 1975. Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, *Artemia salina* L. 10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, sept. 17-23, 1 : 1-9.
- BERNFELD, P., 1954. Sur une méthode de microdosage des amylases in : Methods in Enzymology, S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds., Academic Press, New-York : 149-157.
- BOIVIN, A., R. VENDRELY et C. VENDRELY, 1948. L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire, dépositaire des caractères héréditaires, argument d'ordre analytique. C.R. Acad. Sc., Paris, 226 : 1061-1062.
- BURTON, K., 1968. Determination of DNA concentration with diphenylamine. In : Methods in Enzymology, S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds., Academic Press, New-York, 12 B : 163-168.
- CAMPILLO, A., M. REGNAULT et P. LUQUET, 1975. Evolution des acides nucléiques au cours du développement larvaire de la Crevette rose *Palaeomon serratus* (Pennant). Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 39 (3) : 333-342.
- CHARNEY, J. and R.M. TOMARELLI, 1947. A coloric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. J. biol. chem., 171 : 501-505.
- FUJINAGA, M., 1935. The studies of *Penaeus*. 1. The development of *Penaeus japonicus* Bate. Rep. Hayatomo Fish. Res. Lab., 1 (1) : 1-51.
- FUJINAGA, M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. J. zool., 10 (2) : 305-393.
- FUJINAGA, M., 1969. Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) cultivation in Japan. Proceedings of the world scientific conference on the biology and culture of shrimps and prawns (Mexico, June 1967, FAO Fisheries Reports n° 57, vol. 3, Rome : 811-832.
- LAUBIER-BONICHON, A., 1975. Induction de la maturation sexuelle et ponte chez la crevette *Penaeus japonicus* Bate en milieu contrôlé. C.R. Acad. Sc., Paris, 281, sér. D : 2013-2016.
- LAUBIER-BONICHON, A. et L. LAUBIER, 1976. Reproduction contrôlée chez la crevette *Penaeus japonicus*. Conférence technique de la FAO sur l'Aquaculture. Kyoto, Japon (26 mai-2 juin). FIR:AQ/Conf/76/E.38 (sous presse).
- LOWRY, O.M., N.J. ROSEBROUGH, A.L. FARR and R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. chem., 193 : 256-275.
- SCHMIDT, G. and J.J. THANNHAUSER, 1945. A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoprotein in animal tissues. J. biol. chem., 116 : 13-89.

.../...

- SCHNEIDER, W.C., 1957. Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In : Methods in enzymology. S.P. Colowick and N.O. Kaplan eds. Academic Press New-York, 3 : 680-681.
- SKINNER, D.M., 1966. Breakdown and reformation of somatic muscle during the molt cycle of the land crab *Gecarcinus lateralis*. J. Exp. Zool., 163 : 115-124.
- SULKIN, S.D., R.P. MORGAN and L.L. MINASIAN, Jr., 1975. Biochemical changes during larval development of the Xanthid Crab *Rithro panopeus harrisi*. II. Nucleic Acids. Mar. Biol., 32 : 113-117.
- SUTCLIFFE, W.H., 1965. Growth estimates from ribonucleic acid content in some organisms. Limnol. Oceanogr. (suppl.), 10 : 253-258.
- VAN WORMHOUDT, A., 1973. Activité des protéases, des amylases et des protéines solubles au cours du développement larvaire chez *Palaemon serratus*. Mar. Biol., 19 : 245-248.
- VAN WORMHOUDT, A., 1974. Variation des activités enzymatiques spécifiques chez *Palaemon serratus* et *Penaeus kerathurus* en fonction des conditions physiologiques normales et en élevage. Thèse spécialité Océanographie, Université Aix-Marseille.