

## EVOLUTION DES ACIDES NUCLEIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE DE LA CREVETTE ROSE *PALAEMON SERRATUS* (PENNANT)

par A. CAMPILLO, M. REGNAULT et P. LUQUET

### Summary.

The evolution of nucleic acids in the larvae of *P. serratus* reared in the laboratory from hatching to metamorphosis has been studied.

From the first larval stage to the post-larval stage, DNA and RNA concentration are decreasing : from 185 to 95 uMoles-bases/g PSD concerning DNA and from 133,5 to 78,75 uMoles-bases concerning RNA. The concentration decrease is not regular ; it is emphasized between stages 4 and 5 on one hand, and between stage 7 and the post-larva on an other hand.

The amount of DNA and RNA per larva increases proportionally to the wet weight from stage 1 to the post-larva. As the weight is multiplied by 7,6, total DNA and total RNA are multiplied by 3,80 and 4,25 respectively.

The RNA/DNA ratio has a mean value of 0,77 ; it is slightly increasing from stage 1 (0,72) to the post-larva (0,88).

The growth is mostly dependent upon cellular multiplication (hyperplasy) for two periods : from stage 1 to stage 4, and from stage 5 to stage 7. During the transitory periods (from st. 4 to st. 5 and from st. 7 to PL) increase of cellular-size (hypertrophy) intervenes as much as 100 % in the weight increase observed.

The biochemical variations noticed through the complete larval development of *P. serratus* seem agree with some distinct morphological phases.

Chez les Arthropodes, en particulier chez les insectes, de nombreuses observations ont été faites concernant l'évolution des acides nucléiques et des protéines au cours du développement larvaire (NIGON et DAILLIE, 1958 ; PRICE, 1965 ; LANG et coll., 1965 ; VICKERS et MITLIN, 1966) ou durant la pupaison et la métamorphose (BERREUR, 1965 ; BOWERS et WILLIAMS 1964 ; CHINZEI et TOJO, 1972).

Chez les crustacés, DAGG et LITTLEPAGE (1972) ont établi une relation entre la vitesse de croissance et l'évolution des acides nucléiques chez *Artemia salina* et *Euchaeta elongata*. REGNAULT et LUQUET (1974) ont suivi l'évolution de la teneur en acides nucléiques durant la croissance prépubérale chez *Crangon crangon*, ce qui leur a permis d'estimer la part relative de la multiplication et du grandissement cellulaires.

A notre connaissance, aucune étude de ce genre n'a été entreprise chez les larves de crustacés. En ce qui concerne *Palaemon serratus*, le développement larvaire complet a été réalisé avec succès au laboratoire par REEVE, 1969 ; FORSTER, 1970 ; WICKINS, 1972 ; FIGUEIREIDO, 1973 ; CAMPILLO, 1976.

Le but recherché par ces auteurs était de définir les conditions optimales de température, salinité, alimentation, afin d'obtenir un pourcentage de métamorphose élevé. L'évolution des caractères morphologiques au cours des mues successives, ainsi que les variations de taille et de poids, ont été décrites, mais jusqu'à présent aucun aspect biochimique de la croissance n'a été envisagé.

REGNAULT et LUQUET ont adapté une technique de dosage des acides nucléiques à la crevette grise *Crangon crangon*. Nous avons utilisé ce moyen d'études pour suivre l'évolution de l'ADN et de l'ARN chez les larves de *Palaemon serratus* de l'éclosion à la métamorphose incluse. La part relative de la multiplication cellulaire et du grandissement cellulaire dans la croissance a été également discutée.

### **Matériel et méthodes.**

#### **Matériel biologique.**

A partir de femelles récoltées ovigères, nous avons élevé les larves dans des bacs de 25 ou 30 litres. Dans les meilleures conditions expérimentales, le développement comprend une succession de six stades larvaires, la sixième mue correspondant à la métamorphose. Dans certains cas, on peut observer un stade supplémentaire et la métamorphose correspond alors à la septième mue. Dans les conditions d'élevage réalisées pour cette étude, le temps d'intermue moyen étant de trois jours, les larves sont isolées 24 heures après leur passage d'un stade au suivant. Pour chaque stade, trois échantillons d'un poids moyen compris entre 1,5 et 4 g sont prélevés : ceci représente un nombre de larves compris entre 10 200 (stade 1) et 1 323 post-larves). Après avoir été essorés sur papier Joseph et pesés, les échantillons sont congelés à  $-25^{\circ}\text{C}$  et conservés ainsi jusqu'à l'extraction.

#### **Méthodes analytiques.**

Les méthodes utilisées ont été décrites par DURAND et coll. (1969) chez le rat et adaptées aux crevettes par REGNAULT et LUQUET (1974). Nous en rappellerons simplement les principales étapes.

Après un traitement préalable des tissus à l'acide trichloracétique à 10 % et à  $0^{\circ}\text{C}$ , nous avons suivi la méthode d'extraction de SCHMIDT et TARNHAUSER (1945), soit une hydrolyse alcaline avec NaOH (0,3 N) à  $37^{\circ}\text{C}$  pour libérer l'ARN, suivie d'une hydrolyse acide avec  $\text{HClO}_4$  (0,5 N) à  $80^{\circ}\text{C}$  pour libérer l'ADN.

Les bases de l'ADN et les monoribonucléotides de l'ARN sont séparés par chromatographie sur résines échangeuses d'ions. Leur valeur est déterminée au spectrophotomètre à 250, 260 et 278 m $\mu$ .

### **Résultats.**

Les résultats sont exprimés en micromoles de bases par gramme de poids sec et dégraissé (PSD). Il suffit de les multiplier par 31 pour obtenir l'équivalent en  $\mu\text{g}$  de phosphore par gramme de poids sec et dégraissé.

#### **1. Croissance pondérale.**

Le poids frais moyen des larves, calculé sur trois échantillons de 60 larves, évolue régulièrement de l'éclosion (1<sup>er</sup> stade = 0,42 mg) jusqu'après la métamorphose (post-larve = 3,20 mg). La représentation graphique (fig. 1) semble indiquer cependant une croissance pondérale plus rapide

à partir du 4<sup>e</sup> stade larvaire. La pente du premier segment de droite du stade 1 au stade 3 est de 0,32, celle du second segment (du stade 4 à la post-larve) est de 1,27.

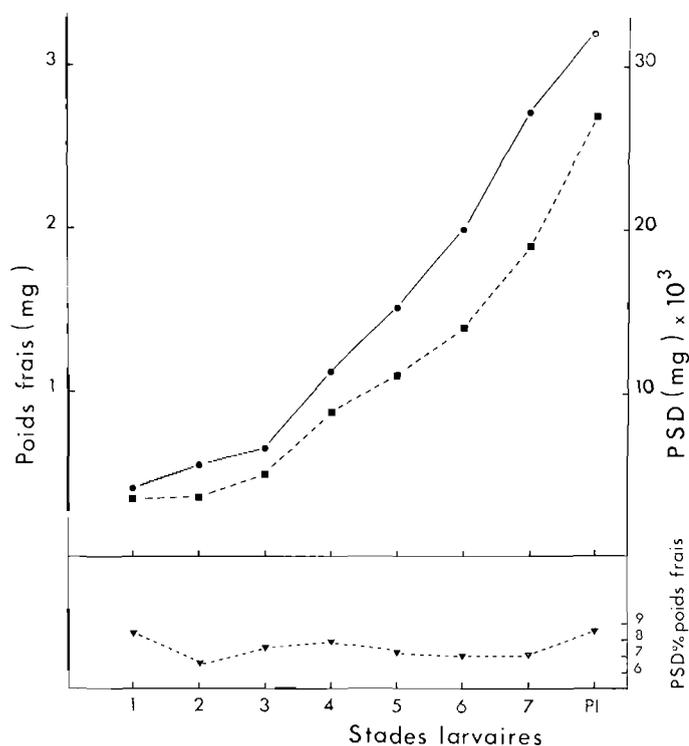


FIG. 1. — A — Variation du poids frais et du poids sec et dégraissé (PSD) (---) durant la vie larvaire de *P. serratus*.

B — Variation du PSD en % du poids frais chez les stades larvaires de *P. serratus*.

Le poids sec et dégraissé (PSD) des larves évolue de façon analogue au poids frais : de 0,037 mg pour le stade 1 à 0,270 pour la post-larve. Le rapport poids sec dégraissé sur poids frais est relativement constant. Exprimé en pourcentage, il est en moyenne égal à 7,5 % (valeurs extrêmes 6,6 et 8,5).

## 2. Concentrations en ADN et ARN.

De l'ensemble des analyses faites, la composition des acides nucléiques de *Palaemon serratus* a pu être partiellement établie. D'une part, le rapport des bases puriques-pyrimidiques de l'ADN estimé par le rapport Adénine/Guanine, est en moyenne égal à 1,80. D'autre part, la proportion des différents monoribonucléotides dans l'ARN est de 23,3 % pour l'acide cytidilique, 21,9 % pour l'acide adénylique, 1,1 % pour l'acide pseudo-urydilique, 21,9 % pour l'acide urydilique et 32,25 % pour l'acide guanylique.

La quantité d'ADN exprimée en  $\mu$ Moles de bases et rapportée au gramme de poids sec et dégraissé, a été déterminée pour chacun des stades larvaires et pour la post-larve.

Les valeurs passent de 185  $\mu$ M-bases pour le stade 1 à 95  $\mu$ M pour la post-larve, soit une diminution de 48,6 % par rapport à la valeur initiale.

La courbe représentée sur la figure 2 montre que l'abaissement de la concentration en ADN n'est pas régulière. Une chute plus marquée s'observe à deux reprises, du stade 4 au stade 5, et du stade 7 à la post-larve.

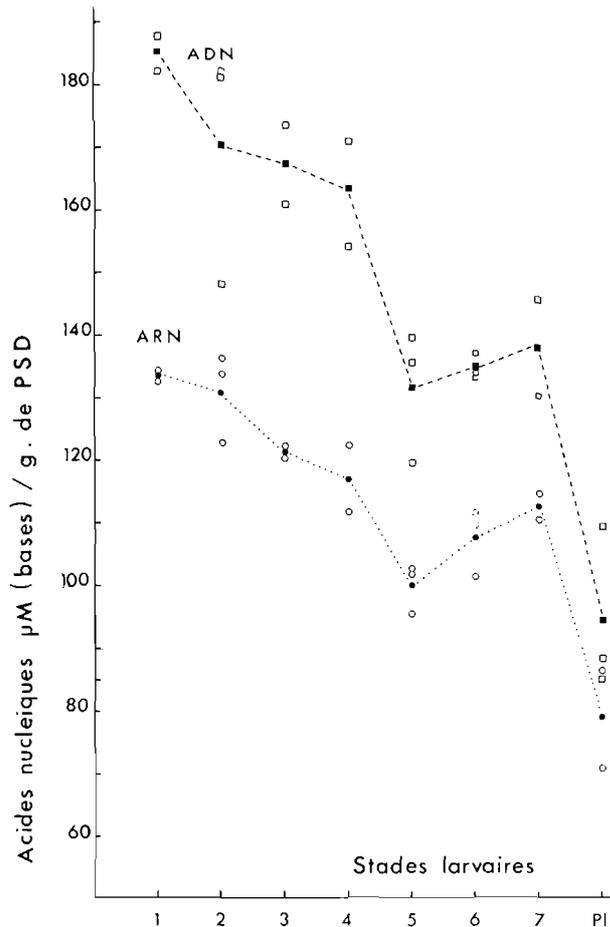


FIG. 2. — Evolution de la concentration en ADN et ARN en fonction des stades larvaires de *P. serratus*.

En ce qui concerne l'ARN, on note également une diminution de la concentration du stade 1 à la post-larve, sa valeur passant de 133,5 à 78,75 µM-bases/g.PSD, soit une baisse de 42 % par rapport à la valeur initiale. Un parallélisme est observé entre l'évolution de l'ADN et celle de l'ARN : tous deux présentent des chutes plus marquées de leur concentration au passage du stade 4 au stade 5 et au passage du stade 7 à la post-larve.

### 3. Evolution de l'ADN total et de l'ARN total.

*ADN total.* Du premier stade larvaire à la post-larve, la valeur de la quantité d'ADN par larve croît de 0,0065 µM-bases à 0,025 µM, soit une augmentation de 284 %.

Comme la concentration de l'ADN diminue du premier stade larvaire à la post-larve, il s'ensuit que l'ADN total augmente moins vite que le poids frais moyen des larves. Ainsi, au cours de la période

étudiée, le poids frais est multiplié par 7,6 alors que l'ADN total n'est multiplié que par 3,80, soit par un facteur deux fois moindre.

La figure 3 montre l'augmentation de l'ADN total en fonction du poids frais moyen des larves et de la post-larve. Nous pouvons remarquer que les valeurs moyennes de l'ADN total se situent le long d'une droite ; cependant, des paliers s'observent entre les stades 4 et 5, et entre le stade 7 et la post-larve.

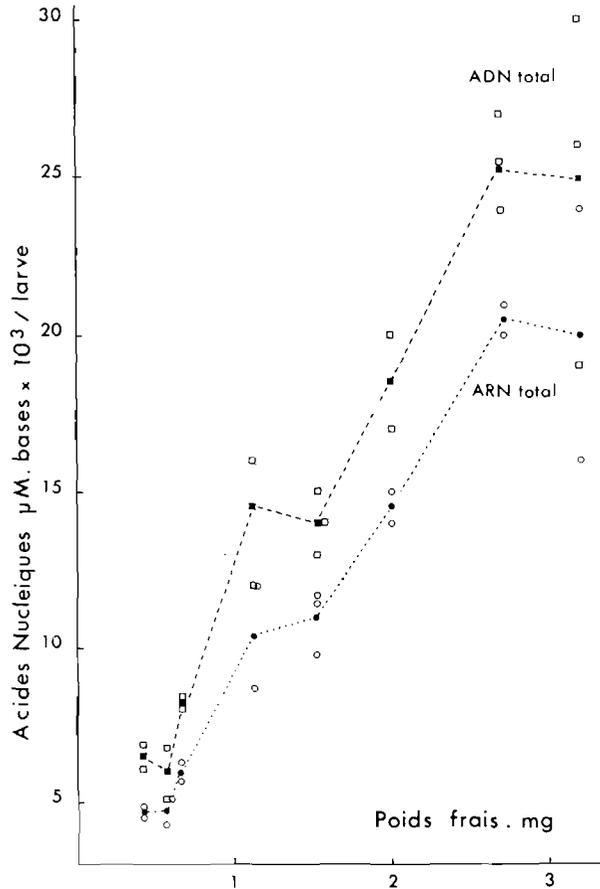


FIG. 3. — Quantité totale d'ADN et d'ARN par larve en fonction du poids frais au cours du développement larvaire de *P. serratus*.

*ARN total.* La quantité d'ARN par larve augmente durant toute la période étudiée. Elle passe de 0,0047 μM-bases au stade 1 à 0,020 μM au stade post-larve, soit un accroissement de 325 % par rapport à la valeur initiale (fig. 3).

Du premier stade larvaire à la post-larve, le poids frais est multiplié par 7,6 tandis que l'ARN total est multiplié par 4,25.

#### 4. Rapport ARN/ADN.

Chez *Palaemon serratus*, la quantité d'ADN par larve est toujours supérieure à la quantité d'ARN, aussi le rapport ARN/ADN est-il inférieur à l'unité. Par ailleurs, la concentration de l'ARN diminuant moins vite que celle de l'ADN au cours de la vie larvaire, le rapport ARN/ADN augmente légèrement durant cette période. Sa valeur moyenne passe de 0,72 (stade 1) à 0,88 (post-larve) (fig. 4).

### 5. Rapport poids frais/ADN.

Cette valeur augmente du stade 1 au stade 5, passant de 64,8 à 108,9. Elle reste relativement stable par la suite (valeurs comprises entre 110 et 114,8) (fig. 5).

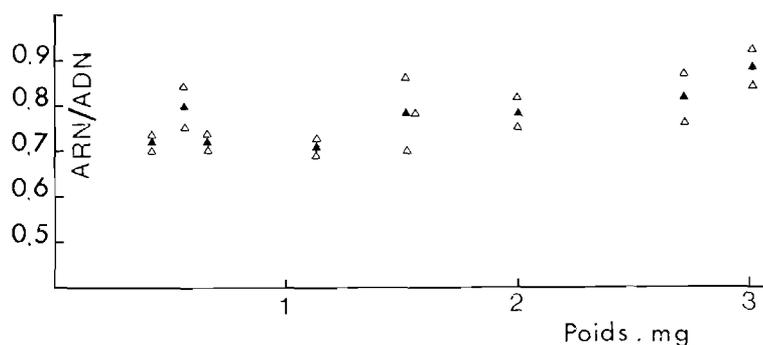


FIG. 4. — Evolution du rapport ARN/ADN en fonction du poids frais des larves durant la vie larvaire de *P. serratus*.

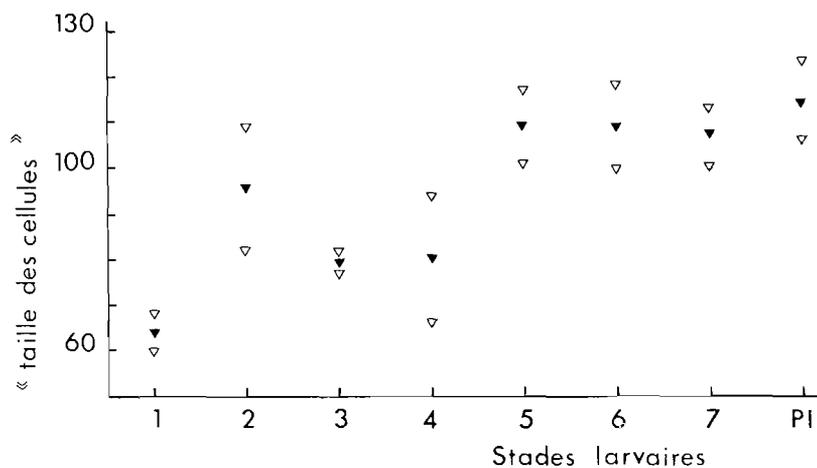


FIG. 5. — Estimation de la « taille des cellules » par le rapport Poids frais moyen d'une larve/ADN total par larve, chez *P. serratus*.

### Discussion.

L'évolution des acides nucléiques durant la phase larvaire de *Palaemon serratus* a été observée sur des homogénéisats totaux de larves élevées au laboratoire de l'éclosion jusqu'à la métamorphose.

D'après le concept de BOIVIN et coll. (1948), la quantité d'ADN par noyau, dans les cellules somatiques diploïdes, est constante pour une espèce donnée. Ainsi, toute variation de la quantité d'ADN dans un organisme reflète une variation du nombre de ses noyaux, donc de ses cellules.

Au cours de la croissance larvaire de *P. serratus*, nous avons observé une augmentation continue de la quantité d'ADN par larve. La post-larve possède 3,84 fois plus d'ADN que la larve fraîchement éclosée.

L'augmentation de la quantité d'ADN par larve reflétant l'accroissement du nombre des cellules semble correspondre aux variations morphologiques observées et au développement progressif des appendices (péréopodes et pléopodes) tout au long de la phase larvaire.

A deux reprises cependant, entre les stades 4 et 5 d'une part et à la métamorphose d'autre part, la quantité d'ADN reste pratiquement stationnaire. Aucun ralentissement dans l'évolution du poids frais et du poids sec et dégraissé n'est observé durant ces deux périodes. Il est curieux de rappeler que la première étape, passage du stade 4 au stade 5, correspond à l'apparition des pléopodes fonctionnels et, d'après les critères morphologiques, au passage de la forme zoé à la forme mysis. De même, la seconde étape, passage du stade 7 à la post-larve correspond à la métamorphose et marque la transition entre la forme larvaire et la forme adulte définitive.

Nous avons noté également que, durant toute la période étudiée, la variation de la quantité d'ADN par larve est deux fois plus faible que la variation de leur poids frais. L'accroissement du nombre des cellules n'explique donc pas à lui seul la croissance pondérale.

Le rapport poids frais/ADN représente la quantité de matière vivante (y compris le matériel intersticiel) associée à chaque noyau. Selon DURAND et coll. (1965) ce rapport peut être assimilé à la « taille » des cellules. Nous avons observé chez *P. serratus* que ce rapport augmentait essentiellement entre le premier et le cinquième stade larvaire, tendant à se stabiliser par la suite. Chez la post-larve, il est 1,75 fois plus élevé que chez la première zoé. Il apparaît donc que la croissance larvaire est le résultat de deux phénomènes distincts : l'augmentation du nombre des cellules (hyperplasie) et le grandissement cellulaire (hypertrophie).

Nous basant sur une méthode de calcul élaborée par DURAND et coll. (1965) nous avons tenté de définir la part relative de l'hyperplasie et de l'hypertrophie dans la croissance larvaire de *P. serratus*.

| Stades larvaires | HYPERPLASIE<br>(en %) | HYPERTROPHIE<br>(en %) |
|------------------|-----------------------|------------------------|
| st. 1 à 4        | 78,3                  | 21,6                   |
| st. 4 à 5        | 13                    | 113                    |
| st. 5 à 7        | 99,8                  | 0,2                    |
| st. 7 à P.L.     | — 39,6                | 139,6                  |

TABLE. 1. — Evaluation de la part relative de l'hyperplasie et de l'hypertrophie chez *P. serratus* de l'éclosion à la métamorphose.

L'hyperplasie est évaluée d'après la formule :

$$\frac{\Delta \text{ADN}}{\text{ADN}} \times \frac{P}{\Delta P} \times 100,$$

où ADN représente la moyenne de l'ADN total des deux repères choisis,  $\Delta$  ADN la variation de l'ADN entre ces deux stades, P la moyenne des poids frais et  $\Delta$  P la variation du poids frais entre les deux stades. L'hypertrophie est calculée par une formule analogue :

$$\frac{\Delta p}{p} \times \frac{P}{\Delta P} \times 100,$$

où p représente la « taille » des cellules soit le rapport Poids frais/ADN.

En fonction des irrégularités signalées précédemment, nous avons découpé la période larvaire en trois phases, du stade 1 au stade 4, du stade 4 au stade 5 et du stade 5 au stade 7 ; la dernière phase, du stade 7 à la post-larve correspondant à la métamorphose.

Le tableau 1 montre que du stade 1 au stade 4, l'hyperplasie intervient pour 78 %, ce qui indique que la croissance est due essentiellement à l'augmentation du nombre de cellules. Ceci correspond à l'élévation rapide de la quantité d'ADN par larve alors que le rapport poids frais/ADN augmente de 64,8 à 80,3 durant cette période.

Du stade 4 au stade 5, l'hypertrophie atteignant 113 %, le gain de poids est dû au grandissement de la « taille » des cellules (de 80,3 à 109), l'ADN total restant stationnaire.

Du stade 5 au stade 7, l'hyperplasie atteint 99,8 % et la taille des cellules ne change pas. Du stade 7 à la post-larve, l'hypertrophie assure à elle seule le gain de poids observé. De la même façon que du stade 4 à 5, on note une augmentation de la taille des cellules alors que l'ADN total reste stationnaire. Ainsi, au cours du développement larvaire de *P. serratus*, on note une alternance des phases de multiplication et de grandissement cellulaire.

La teneur en ARN est habituellement considérée comme un indicateur des synthèses protéiques. Chez *P. serratus*, nous avons noté une évolution de l'ARN total parallèle à celle de l'ADN total et à celle du poids frais. Deux phases de synthèse protéique intense se retrouvent du stade 1 au stade 4 et du stade 5 au stade 7.

LANG et coll. (1965), NIGON et DAILLIE (1958), VICKERS et MITLIN (1966) ont observé également qu'au cours du développement larvaire respectif du moustique, de la mouche et d'un coléoptère les variations de l'ADN total et de l'ARN total étaient proportionnelles à celles du poids frais.

Le rapport ARN/ADN traduit habituellement les potentialités de la cellule à synthétiser les protéines. Certains auteurs ont utilisé cette valeur pour estimer la vitesse de croissance de populations de crustacés (SUTCLIFFE, 1969) ou de poissons (HAINES, 1973).

Nous avons remarqué chez les larves de *Palaemon* que l'ARN étant toujours inférieur quantitativement à l'ADN, ce rapport était inférieur à l'unité et sa valeur moyenne de l'ordre de 0,7. De telles valeurs se rencontrent chez les Mammifères dans les organes où la masse cytoplasmique et le matériel extracellulaire associé à chaque noyau est faible (ex thymus, tissu lymphoïde, moelle osseuse) (LESLIE, 1955). Des valeurs faibles du rapport ARN/ADN sont également observées dans certains tissus embryonnaires et tous les tissus à croissance très rapide (ENESCO et LEBLOND, 1962).

Deux séries d'observations faites chez les Arthropodes viennent confirmer ces remarques.

D'une part chez les larves d'Insectes le rapport ARN/ADN est toujours très élevé, de 4 à 14 atteignant même 27 chez les larves de *Calliphora* âgées de trois jours. Or le rapport cytoplasme/noyau est très élevé, la croissance larvaire chez les Insectes se faisant uniquement par accroissement de la taille des cellules (BERREUR, 1965 ; LAFON, 1975).

D'autre part, chez la crevette grise *C. crangon*, REGNAULT et LUQUET ont observé que le rapport ARN/ADN augmente sensiblement au cours de la croissance. Il est de 0,85 un mois après la métamorphose (crevettes de 10,4 mg), reste voisin de 0,88 jusqu'au poids de 25 mg, puis s'élève graduellement pour atteindre 1,27 chez les crevettes de 70 mg présentant les caractères sexuels externes, et atteint 1,95 chez les crevettes matures de 500 mg (à paraître).

Ne possédant aucune référence concernant l'évolution des acides nucléiques chez les larves de Crustacés, nous nous bornerons à présenter ces deux hypothèses pour expliquer la quantité importante d'ADN par rapport à l'ARN chez les larves de *Palaemon* étudiées ici.

Deux points cependant méritent d'être rappelés à l'issue de cette étude.

La croissance larvaire chez les Crustacés apparaît très différente de celle des Insectes. Dans ce dernier groupe en effet, le nombre de cellules ne varie pas au cours de la période larvaire ; la croissance est assurée uniquement par l'augmentation de la taille des cellules. Chez les Crustacés, nous avons observé que l'hyperplasie était dominante durant la majorité de la phase larvaire. L'hypertrophie, elle, ne domine que durant deux étapes, le passage de la forme zoé à la forme mysis et la métamorphose.

Chez les Caridae, les premiers stades larvaires sont des zoés. L'apparition de pléopodes libres et bilobés définit la forme mysis. Chez *P. serratus*, les pléopodes apparaissent au stade 4 mais à l'état de bourgeons sous la cuticule, ne devenant libres et fonctionnels qu'au stade 5. Par ailleurs, la post-larve apparaît à la sixième ou à la septième mue.

Le terme de mysis a été contesté par GURNEY (1942) et WILLIAMSON (1969). Ce dernier auteur considère que les stades compris entre la zoé et la post-larve ne méritent pas un nom distinctif, d'où l'abandon du terme mysis. Cependant, il note que les stades pourvus de pléopodes fonctionnels correspondent à une phase bien marquée, distincte à la fois des premières zoés et des stades juvéniles.

Il est intéressant de remarquer que cette distinction, basée sur des caractères morphologiques, se trouve confirmée par les variations de la composition biochimique que nous avons observées chez *P. serratus* au passage du stade 4 au stade 5, et lors de la métamorphose.

- Laboratoire de I.S.T.P.M., Roscoff, 29211
- Laboratoire de Carcinologie et d'Océanographie biologique, Ecole Pratique des Hautes Etudes 75005 Paris.
- Laboratoire de Nutrition des Poissons INRA, 78. Jouy-en-Josas.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BERREUR (P.), 1965. — Etude expérimentale de l'action de l'hormone de mue sur l'évolution des acides nucléiques au cours de la métamorphose de *Calliphora erythrocephala* (MEIG) Insecte, Diptère. — *Arch. Zool. exp. gén.* **106**, p. 531-624.
- BOIVIN (A.), VENDRELY (R.) et VENDRELY (C.), 1948. — L'acide desoxyribo-nucléique du noyau cellulaire, dépositaire des caractères héréditaires; arguments d'ordre analytique. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **226**, p. 1 061-1 062.
- BOWERS (B.) et WILLIAMS (C.-M.), 1964. — Physiology of Insect diapause. XIII. DNA synthesis during the metamorphosis of the *Cecropia silkworm*. — *Biol. Bull., Woods Hole*, **126**, p. 205-219.
- CAMPILLO (A.), 1975. — Données pratiques sur l'élevage au laboratoire des larves de *Palaemon serratus* (PENNANT). — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, (sous presse).
- CHINZEI (Y.) et TOJO (S.), 1972. — Nucleic acid changes in the whole body and several organs of the silkworm *Bombyx mori* during metamorphosis. — *J. Insect Physiol.*, **18**, p. 1 683-1 698.
- DAGG (M.-J.) et LITTLEPAGE (J.-L.), 1972. — Relationship between growth rate and RNA, DNA, protein and dry weight in *Artemia salina* and *Euchaeta elongata*. — *Mar. Biol.* **17**, p. 162-170.
- DURAND (G.), FAUCONNEAU (G.) et PENOT (E.), 1965. — Etude biochimique de la croissance de l'intestin grêle, du foie et de la cascade du rat; rôles respectifs de la multiplication et du grandissement cellulaires. — *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **5**, p. 163-187.
- 1969. — Répartition des cellules entre les tissus du rat adulte, préalablement soumis à une sous-nutrition énergétique temporaire à deux stades de la croissance. — *Ibid.*, **9**, p. 55-73.
- ENESCO (M.) et LEBLOND (C.-P.), 1962. — Increase in cell number as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. — *J. Embryol. Exp. Morph.*, **10** (4), p. 530-562.
- FIGUEIREDO (M.-J.), 1973. — Some foods studies in the larval rearing of *Palaemon serratus* (PENNANT). — I.C.E.S.C.M., K 5.
- FORSTER (J.-R.-M.), 1970. — Further studies on the culture of the prawn *Palaemon serratus* Pennant, with emphasis on the post-larval stages. — *Fish. Invest.*, Londres, Ser. 2, **26** (6), p. 1-40.
- GURNEY (R.), 1942. — Larvae of Decapod Crustacea. — *Ray Soc. Publs*, 129 pages.
- HAINES (T.-A.), 1973. — An evaluation of RNA-DNA ratio as a measure of long-term growth in fish populations. — *J. Fish. Res. Bd Canada*, **30**, p. 195-199.
- LAFON (R.), 1975. — Aspects biochimiques de la différenciation des disques imaginaux alaires des Lépidoptères. — Thèse d'Etat, E.N.S. Lab. Zool., Paris, 157 pages.
- LANG (C.-A.), LAU (D.-J.) et JEFFERSON (D.-J.), 1965. — Protein and nucleic changes during growth and aging in the mosquito. — *Biochem. J.*, **95**, p. 372-377.
- LESLIE (I.), 1955. — The nucleic acid content of tissues and cells: pp. 1-50 in *The Nucleic Acids: Chemistry and Biology*. — Edit. CHARGAFF E. et DAVIDSON J.-N., tome 2, *Acad. Press*, N.Y.
- NIGON (V.) et DAILLIE (J.), 1958. — La synthèse de l'acide desoxyribo-nucléique au cours du développement de la drosophile. — *Biochem. Biophys. Acta*, **29**, p. 246-254.
- PRICE (G.-M.), 1965. — Nucleic acids in the larva the blowfly *Calliphora erythrocephala*. — *J. Insect Physiol.*, **11**, p. 869-878.

- REEVE (M.-R.), 1969. — The laboratory culture of the prawn *Palaemon serratus*. — *Fish. Invest. Londres*, Ser. 2, **26** (1), p. 1-38.
- REGNAULT (M.) et LUQUET (P.), 1974. — Study by evolution of nucleic acid content of prepuberal growth in the shrimp *Crangon crangon*. — *Mar. Biol.* **25** (4), p. 291-298.
- SCHMIDT (G.) et TANNHÄUSER (S.-J.), 1945. — A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. — *J. Biol. Chem.*, **161**, p. 83-89.
- SUTCLIFFE (W.-H.), 1969. — Relationship between growth rate and ribonucleic acid concentration in some invertebrates. — *J. Fish. Res. Bd Canada*, **27** (3), p. 606-609.
- VICKERS (D.-H.) et MILTIN (N.), 1966. — Changes in nucleic acid content of the boll weevil *Anthonomus grandis* BOHEMAN, during its development. — *Physiol. Zool.*, **39**, p. 70-76.
- WICKINS (J.-F.), 1972. — Development in the laboratory culture of the common prawn *Palaemon serratus* PENNANT. — *Fish. Invest. Londres*, ser. 2, **27** (4), p. 1-23.
- WILLIAMSON (D.-I.), 1969. — Names of larvae in the Decapoda and Euphausiacea. — *Crustaceana*, **16** (2), p. 210-213.