

Indices biochimiques et milieux marins. Journées du GABIM, Brest, 18-20 Nov. 1981
Publi. CNEOX (Actes Colloq.) n. 14, 1982, p. 231 à 248

COMPARAISON DE L'EVOLUTION ET DU CONTROLE DE L'ACTIVITE DES AMYLASES
ET DES PROTEASES AU COURS DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE ET DES PREMIERS
STADES JUVENILES CHEZ PALAEEMON SERRATUS, MACROBRACHIUM ROSENBERGII
ET PENAEUS JAPONICUS (CRUSTACEA DECAPODA).

A. VAN WORMHOUDT

Laboratoire de Biologie Marine, 29110 CONCARNEAU
Ecole Pratique des Hautes Etudes, Station Marine d'Endoume (LA 41), 13007 MARSEILLE

RESUME :

— L'évolution de l'activité des amylases et des protéases a été suivie au cours du développement larvaire chez 3 espèces de crustacés décapodes Natantia. Chez Palaemon serratus, Macrobrachium rosenbergii et Penaeus japonicus, l'augmentation des amylases est plus forte que celle des protéases. Ces changements apparaissent surtout à la fin des stades nauplius et des stades mysis chez les Penaeus et au cours des stades mysis chez Palaemon et Macrobrachium. Ils sont liés à des modifications du régime alimentaire et à l'apparition d'un contrôle hormonal au cours des différentes phases du développement larvaire. —

SUMMARY :

— Amylase and protease activities were followed during the larval development of 3 species of Crustacea Decapoda. In Palaemon serratus, Macrobrachium rosenbergii and Penaeus japonicus the increase in the activity is greater for amylases than for proteases. These changes appear mainly at the end of the nauplius and mysis stages in Penaeus and during the mysis stages in Palaemon and Macrobrachium. They are related to modification of nutrition and to the appearance of an hormonal control. —

MOTS CLES : Amylases, protéases, développement larvaire, hormones, nutrition, crustacés.

INTRODUCTION :

L'amélioration des techniques d'élevage passe par un ajustement de l'alimentation des larves à leurs potentialités physiologiques. A cette fin une meilleure connaissance du stock enzymatique digestif est nécessaire.

Trois espèces ont été particulièrement étudiées de ce point de vue et Palaemon serratus est la mieux connue des trois.

L'étude du développement larvaire de Palaemon serratus a été réalisée pour la première fois par SOLLAUD (1923) à partir de larves élevées en laboratoire. Les travaux de REEVE (1969a), FORSTER et BEARD (1970) de WICKINS (1972) et de CAMPILLO (1975) ont permis de préciser l'influence de différents paramètres sur la croissance des larves.

En ce qui concerne Macrobrachium rosenbergii, la production de post-larves à l'échelle semi-industrielle est réalisée depuis 1976 au Centre Océanologique du Pacifique. L'élevage de Penaeus japonicus s'est développé ces dernières années au Centre Océanologique de Bretagne où pour la première fois la production contrôlée de larves a été réalisée en 1975 (LAUBIER-BONICHON, 1975).

Chez ces trois espèces, les recherches actuellement en cours ont pour but de mettre au point des aliments composés plus économiques que l'aliment naturel et adaptés à chaque étape de la vie larvaire.

Grâce aux progrès réalisés dans l'élevage des crustacés quelques auteurs ont pu effectuer des travaux divers sur la physiologie des larves (COSTLOW et SASTRY, 1966 ; REGNAULT, 1971). Mais peu ont été consacrés à l'étude de la nutrition larvaire du point de vue enzymologique.

Par analogie avec ce qui était connu chez les mammifères (BEN ABDELJLIL et DESNUELLE, 1964 ; LE BAS et coll., 1971), une adaptation des enzymes digestives au régime alimentaire a été recherchée chez les juvéniles de Palaemon serratus. Dans cette hypothèse, l'estimation globale du pool enzymatique permet de déterminer les tendances du régime alimentaire de l'animal alors que l'on peut suivre les variations de ce régime en suivant le rapport amylases/protéases au cours du développement.

Un des buts de ce travail est également de mettre en évidence, chez Palaemon serratus, espèce la mieux étudiée, quelque uns des mécanismes impliqués dans la régulation de l'activité des enzymes digestives, que ce soit du point de vue des métabolites ou des facteurs hormonaux.

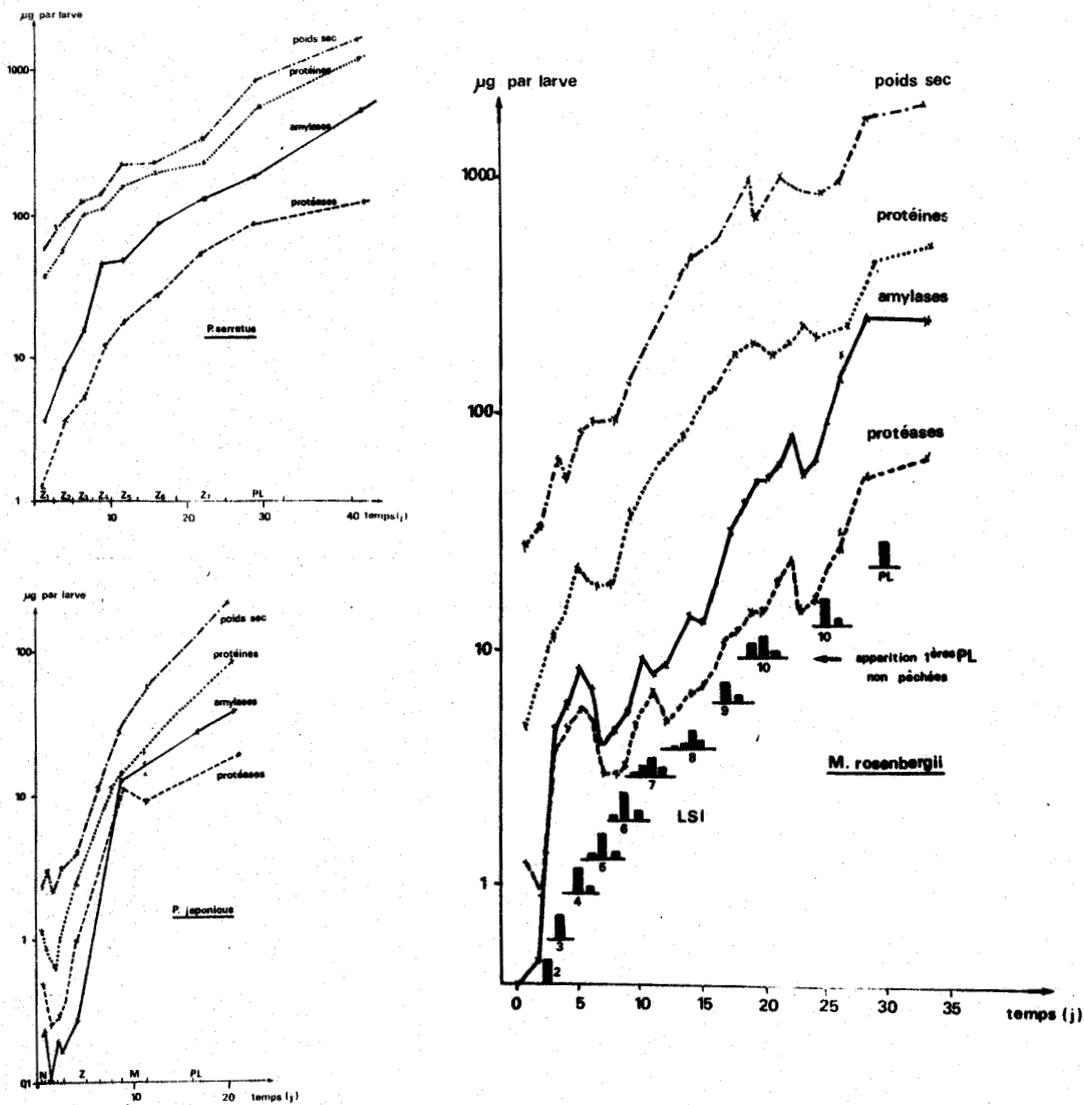


Figure 1 :

Evolution du poids sec, des protéines totales, de l'activité amylasique et protéasiques au cours du développement larvaire de crustacés décapodes Nantantia.

A Palaemon serratus : les oeufs fécondés proviennent de femelles pêchées à Concarneau et sont élevés à 29°C.

B Macrobrachium rosenbergii : les larves sont élevées à Vairao (COP Tahiti). Les prélèvements sont effectués tous les jours et la répartition majeure des stades notés (larval stage index - LSI). La température de l'eau est de 28°C.

C Penaeus japonicus : les oeufs proviennent de femelles grainées élevées à Brest (COB). La température de l'eau est de 25°C.

N = nauplius ; Z = zoés ; M = mysis ; PL = Post-larves.

MATERIEL ET METHODES :

- Matériel biologique :

Les larves de Palaemon serratus sont obtenues soit à partir d'élevage en grand volume réalisé à Quiberon, soit à partir d'élevage en laboratoire. Dans le premier cas, les larves sont élevées en grand bassin de 800 m³ à partir d'algues vertes et de nauplii d'Artemia, progressivement remplacées par de la chair de moule pour les stades avancés. Dans le second cas, les femelles sont pêchées à Concarneau au printemps. Elles sont placées jusqu'à leur ponte à la température de 19°C, sous photopériode naturelle. Chaque ponte est élevée séparément dans des bacs de 20 l, en circuit fermé d'eau de mer changée tous les deux jours. Les animaux sont nourris à satiété tous les jours à partir de larves d'Artemia nouvellement écloses. La détermination des stades larvaires est faite selon la méthodologie décrite par SOLLAUD (1923). On obtient dans les deux cas, sept stades zoés différents avant le stade post-larvaire.

. Les larves de Macrobrachium rosenbergii sont élevées à Vairao dans des bacs de 500 l en présence de nourriture présentée sous forme de particules inertes (blanc de seiche, chair de bonite, Artemia adultes congelés) et de proies vivantes (nauplii d'Artemia (Aquacop, 1977)).

. Les larves de Penaeus japonicus sont élevées à partir d'algues unicellulaires, de rotifères et d'Artemia selon des techniques décrites par ailleurs (LAUBIER-BONICHON et coll., 1977).

- Méthodes d'analyses :

Les larves lyophilisées sont comptées, pesées puis broyées dans du tampon phosphate 10⁻²M à pH 7 dans un polybroyeur en verre Kontes-Dual. Les concentrations retenues sont : pour les larves de Palaemon et de Macrobrachium, plus grosses, 50 individus par ml de tampon au stade zoé 1, 10 individus au stade zoé 6 et 5 individus aux stades post-larvaires, de façon à ajuster la quantité des protéines du surnageant de 1 à 5 mg/ml ; et pour les larves de Penaeus, 5000 nauplii, 500 zoés et 10 post-larves par ml.

Après centrifugation à 30 000 g pendant 30 mn, la mesure des activités enzymatiques est effectuée selon la méthode de BERNFELD modifiée pour les amylases en présence de glycogène 0,66 %, de manganèse 1 mM et de NaCl (10 mM) ; pour les protéases selon la méthode de CHARNEY et TOMARELLI en utilisant la caséine yellow comme substrat.

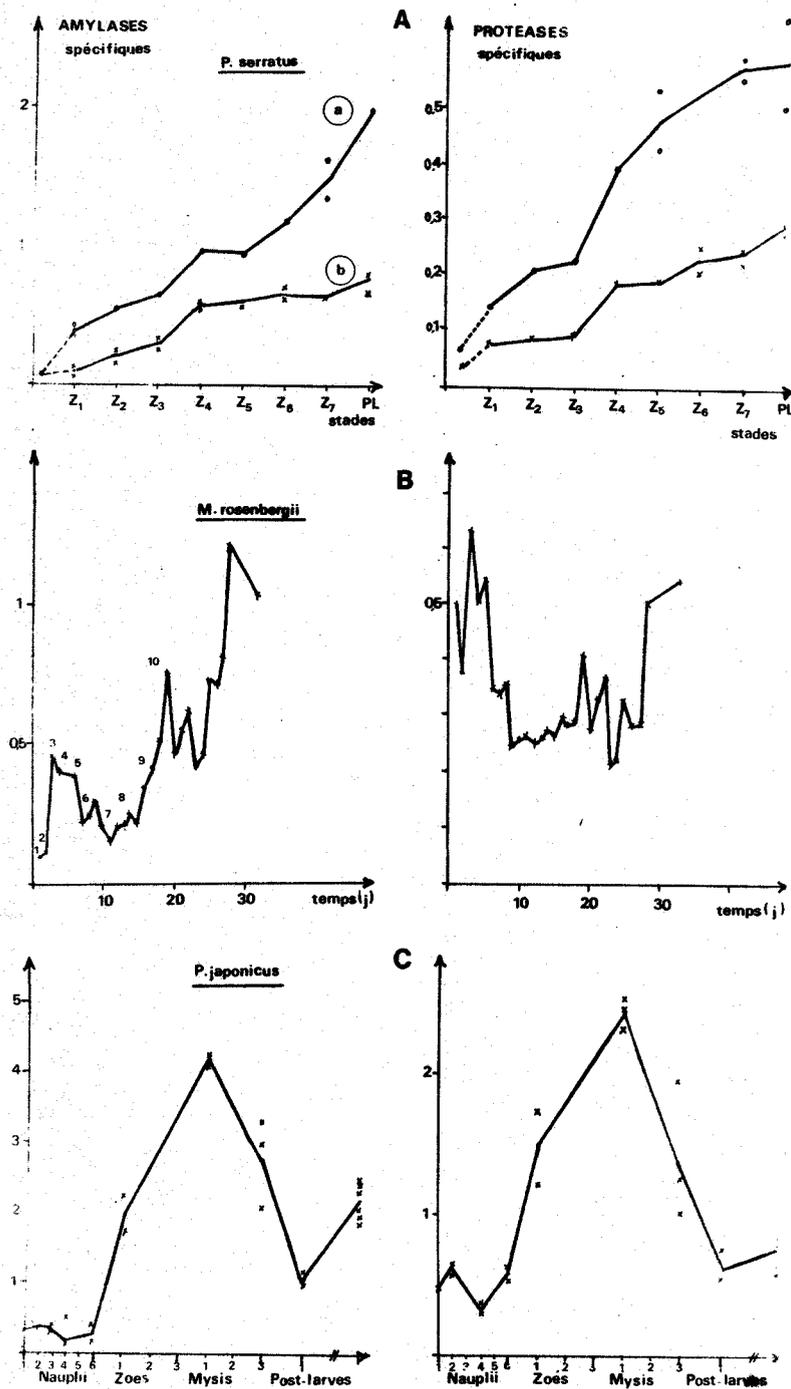


Figure 2 :

Evolution de l'activité spécifique des amylases et des protéases au cours du développement larvaire.

A Palaemon serratus :

- a) espèces élevées à Concarneau directement à partir d'Artemia. L'activité enzymatique est mesurée en présence de glycogène.
- b) espèces élevées à Quiberon d'abord à partir d'algues vertes puis en présence d'Artemia. L'activité enzymatique est mesurée en présence d'amidon soluble.

B Macrobrachium rosenbergii :

C Penaeus japonicus :

Les activités sont ramenées au mg de protéines du surnageant mesuré au réactif de Folin (LOWRY et coll., 1951) et sont exprimées en mg de maltose libéré/10 mn à 37° pour les amylases et en mg de caséine hydrolysées/h à 37° pour les protéases.

RESULTATS :

1 - Activités enzymatique digestives au cours du développement.

. Chez Palaemon serratus que ce soit en élevage au laboratoire où à plus grande échelle, la croissance mesurée par l'augmentation du poids sec en fonction du temps, se ralentit au cours des derniers stades larvaires : zoés 5, 6, et 7.

Parallèlement, on mesure une forte diminution de l'activité des enzymes digestives (Fig. 1a) qui s'accroît pour les amylases davantage que pour les protéases.

L'évolution des activités spécifiques permet de mieux suivre ces variations (Fig. 2a). Des différences secondaires portant sur l'amplitude des variations sont observées en fonction des conditions expérimentales. Le rapport amylases/protéases exprimé conventionnellement par heure (A/P), augmente d'abord jusqu'au stade zoé 4 ou zoé 5 selon les conditions d'élevage puis se stabilise (Fig. 3a). Il augmente de nouveau chez les juvéniles (VAN WORMHOUDT, 1980).

Ces variations pourraient correspondre à des changements de régime alimentaire. Le premier stade larvaire se nourrit très peu. L'alimentation des premiers stades zoés est surtout composée, dans les opérations d'élevage en grand volume, de phytoplancton riche en polysaccharides. L'augmentation des protéases est dans ce cas, plus tardive que celle des amylases qui commence au stade zoé 2. Au contraire, au laboratoire, des oeufs d'*Artemia* fraîchement éclos sont distribués au stade 1, ce qui correspond à une augmentation plus rapide des protéases.

. Chez Macrobrachium rosenbergii la première post-larve apparaît vers le 20ème jour. Les courbes de poids sec et des protéines en fonction du temps font apparaître un ralentissement de la croissance à partir du 15ème jour (stade 8) correspondant aux stades préparatoires à la métamorphose.

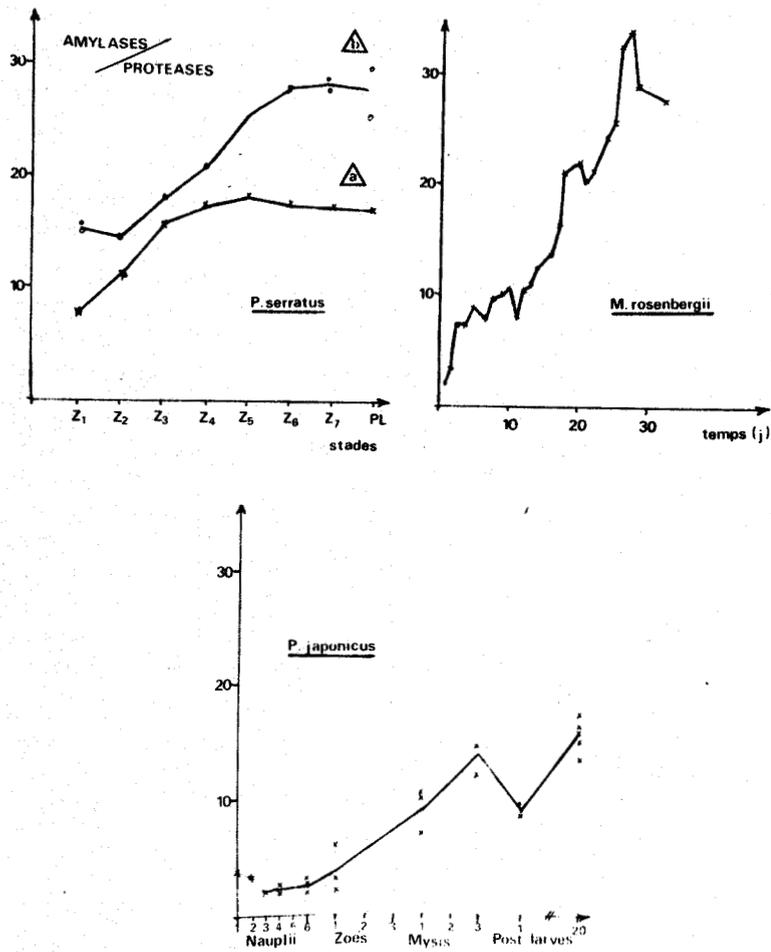


Figure 3 :

Evolution du rapport amylase/protéase au cours du développement larvaire

A - *Palaemon serratus*

B - *Macrobrachium rosenbergii*

C - *Penaeus japonicus*.

Le rapport des activités est exprimé en $\frac{\text{mg de maltose libéré}}{\text{mg de caséine hydrolysée}}$ par heure à 37°.

En ce qui concerne l'activité des enzymes digestives, les 2 premiers jours le taux reste faible. L'animal, aux stades zoé 1 et zoé 2 ne se nourrit pas et vit sur ses réserves. A la fin du stade zoé 2 l'augmentation de l'activité enzymatique digestive est brutale pour atteindre un premier maximum au stade zoé 1. (Fig. 1b).

Jusqu'au 15 ème jour les augmentations des amylases et des protéases sont parallèles. Par la suite les amylases vont augmenter plus fortement que les protéases.

L'activité spécifique ramenée au mg de protéines solubles est maximale au 3ème jour d'élevage. Ceci est lié à une diminution des réserves et au début de la période trophique. Cette activité spécifique diminue régulièrement jusqu'au 10ème jour d'élevage, se stabilise pour les protéines mais augmente à nouveau pour les amylases (Fig. 2 b) (stade 5 - 6)

Par rapport au taux des protéines solubles ramené au poids sec qui reste constant et voisin de 24 %, l'activité spécifique de l'amylase est multiplié par 5 alors que l'activité spécifique des protéases n'augmente que d'un facteur 2.

Dans ces conditions le rapport amylases/protéases augmente fortement à partir des stades 5 et 6 (Fig. 3b).

. Chez Penaeus japonicus au cours des premiers stades nauplius, le poids sec lyophilisé diminue. La croissance en poids sec s'effectue essentiellement à partir de la phase zoé. Elle est un peu moins rapide aux stades mysis et post-larvaires.

Parallèlement à l'augmentation de poids individuel, on observe à partir des derniers stades nauplii, une augmentation de l'activité des enzymes digestives, amylases et protéases (Fig. 1c).

L'augmentation est plus forte pour les amylases : elle est multipliée par 15, alors que pour les protéases est n'est multipliée que par 5 entre les stades zoés et mysis.

- L'activité spécifique des enzymes digestives varie peu au cours des stades nauplii. Elle augmente rapidement à la fin des stades zoés pour atteindre un maximum au cours des stades mysis 1. Par la suite elle diminue jusqu'au stade post-larvaire pour augmenter à nouveau ensuite progressivement (Fig. 2c).

- Le rapport amylases/protéases subit 2 variations de pente importantes du passage de la phase nauplius à la phase zoé et du passage de la phase mysis à la phase post-larvaire (Fig. 3c).

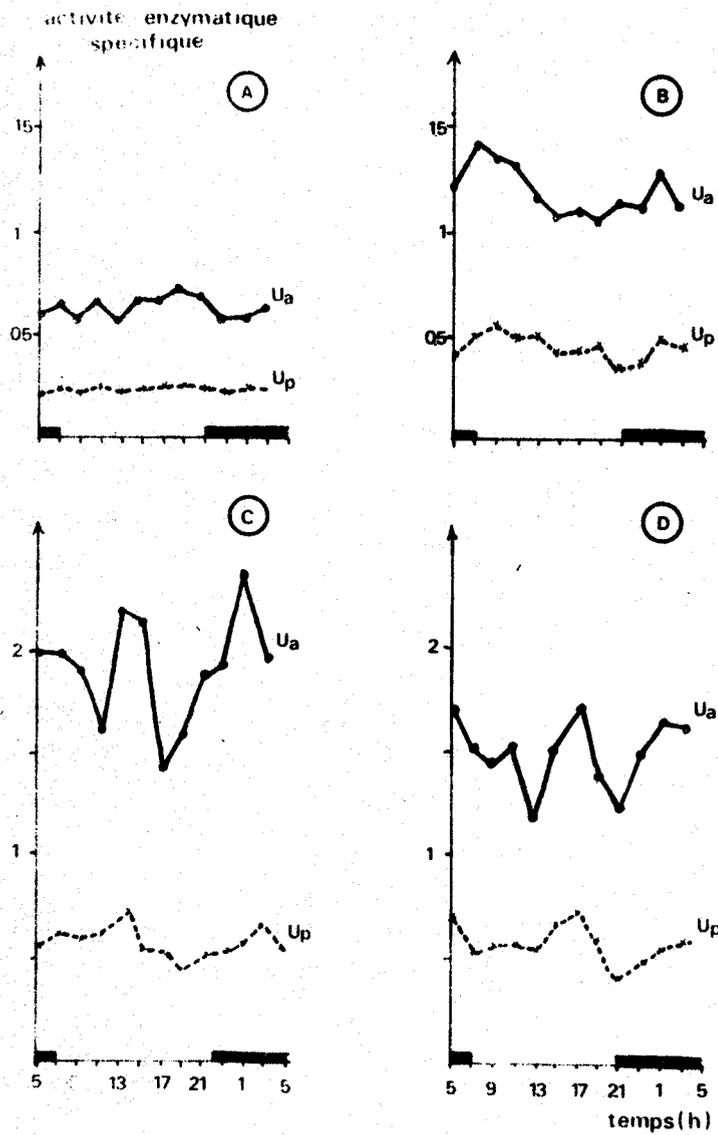


Figure 4 :

Apparition du rythme circadien au cours du développement larvaire de Palaemon serratus.

- a) stade zoé 1
- b) stade zoé 4
- c) stades post-larvaires
- d) stades juvéniles de 100 mg de poids frais.

- Rôle du facteur trophique.

Les variations de l'activité des enzymes digestives en fonction du régime alimentaire montrent le rôle important du facteur trophique chez Palaemon serratus.

. Chez les larves du stade 1 qui ne se nourrissent pas il n'y a pas de rythme circadien de variation des enzymes digestives. Par contre, au stade zoé 4 le rythme possède les mêmes caractéristiques que celles décelées chez l'adulte. Les variations d'amplitude sont importantes (30 - 40 %). Ces dernières sont encore plus fortes au stade post-larvaire et juvénile (70 % environ). Le rythme est a tendance diphasique (Fig. 5).

. Chez les juvéniles une adaptation des enzymes digestives au constituant principal du régime alimentaire a été mis en évidence. Par ailleurs, (VAN WORMHOUDT et coll., 1980) les principaux résultats sont réunis dans le tableau 1.

% protéines (a)	0,25	6,5	25,8	36	45	53-56	63			
Protéases	1,7	2,6	2,8	3,5	3,9	2,5	2,5			
spécifiques	+ -									
	0,3	0,2	0,4	0,7	0,6	0,5	0,5			

% glucides consommables (b)	0,1	0,3	0,6	2,8	5,6	9,4	10,5	20,5	51,6	80,5
Amylases	3,2	3,8	4,8	5,4	5,2	4,6	4,3	3,9	4,1	2,4
spécifiques	+ -									
	0,9	0,8	0,4	1,4	0,7	0,5	0,6	0,8	1,7	0,9

TABLEAU 1 :

Variation de l'activité spécifique de protéases (a) et des amylases (b) en fonction du pourcentage de protéines et de glucides consommable de l'alimentation chez Palaemon serratus.

Les expériences sont réalisées sur des juvéniles de 1 cm pêchés au mois de mai à Concarneau. Elles durent 3 semaines à 17°C.

4. Contrôle hormonal larvaire : mise en évidence.

Trois approches sont envisagées pour mettre en évidence le contrôle hormonal. D'une part l'ablation de glandes endocrines, d'autre part la mesure de certaines hormones stéroïdes par radioimmunoessai et enfin la localisation d'hormones peptidiques par immunocytochimie.

. Chez les larves seule l'ablation des pédoncules oculaires a pu être réalisée : à partir des derniers stades zoés il y a inhibition de l'activité spécifique des amylases. Les protéases semblent moins affectées (Fig. 5). L'existence d'un facteur stimulateur de la synthèse des amylases est donc probable chez les larves de stade 7. Des expériences d'injection et de purification sont nécessaires pour confirmer ce résultat.

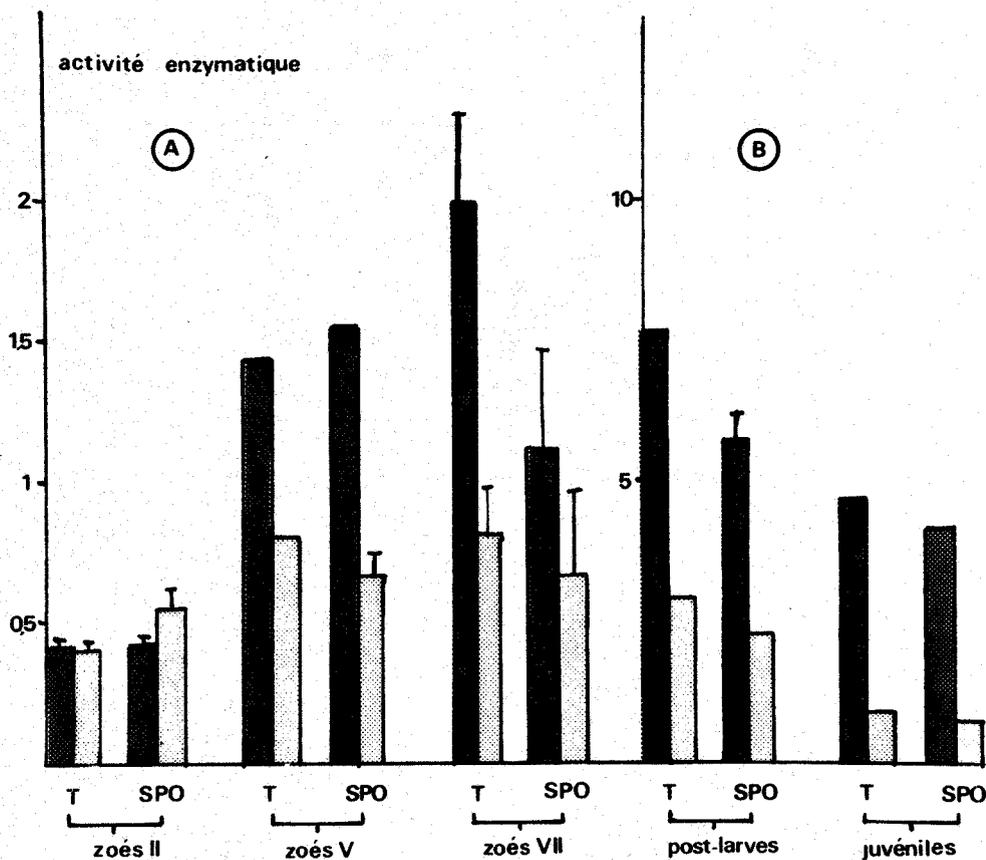


Figure 5 :

Influence de l'ablation des pédoncules oculaires au cours du développement larvaire chez *Palaemon serratus* sur l'activité des amylases (noir) et des protéases (grisé).

- a) larves entières des stades zoé 2 (50/ml) et zoé 5 (50/ml)
- b) hépatopancréas des stades post-larves (5/ml) et juvéniles (2/ml)

. Une mesure du taux des ecdystéroïdes a été effectuée dans les pédoncules oculaires et dans le reste du corps. Ce taux est très élevé au stade zoé 1 et diminue fortement par la suite. Par contre la concentration augmente dans le reste du corps (tableau 2).

. La localisation de l'hormone hyperglycémisante par immunocytochimie a pu être réalisée dans la glande du sinus et de quelques cellules neuroendocrines dès le stade zoé 4 (Fig. 6).

pg/mg poids sec Stades larvaires	pédoncules oculaires	reste du corps
Zoé 1	450	475
Zoé 4	134	208
Zoé 5	34	85
Post-larves	14	50
Adulte	0 - 180 *	nd

TABLEAU II :

Variation de la concentration en ecdystéroïde dans les pédoncules oculaires au cours du développement larvaire de Palaemon serratus.

* Valeur variable au cours du cycle d'intermue. 180 pg/mg poids sec représentant la valeur optimale obtenue en fin de prémue (VAN WORMHOUDT, 1980). Dosage effectué selon la méthode préconisée par PORCHERON (1979). La spécificité de l'antisérum utilisé est de 100 % pour l'ecdysone ou l'ecdystérone ; 52 % pour l'inokostérone, 2 % pour la makistérone et très faible pour les autres ecdystéroïdes.

nd = non déterminé.

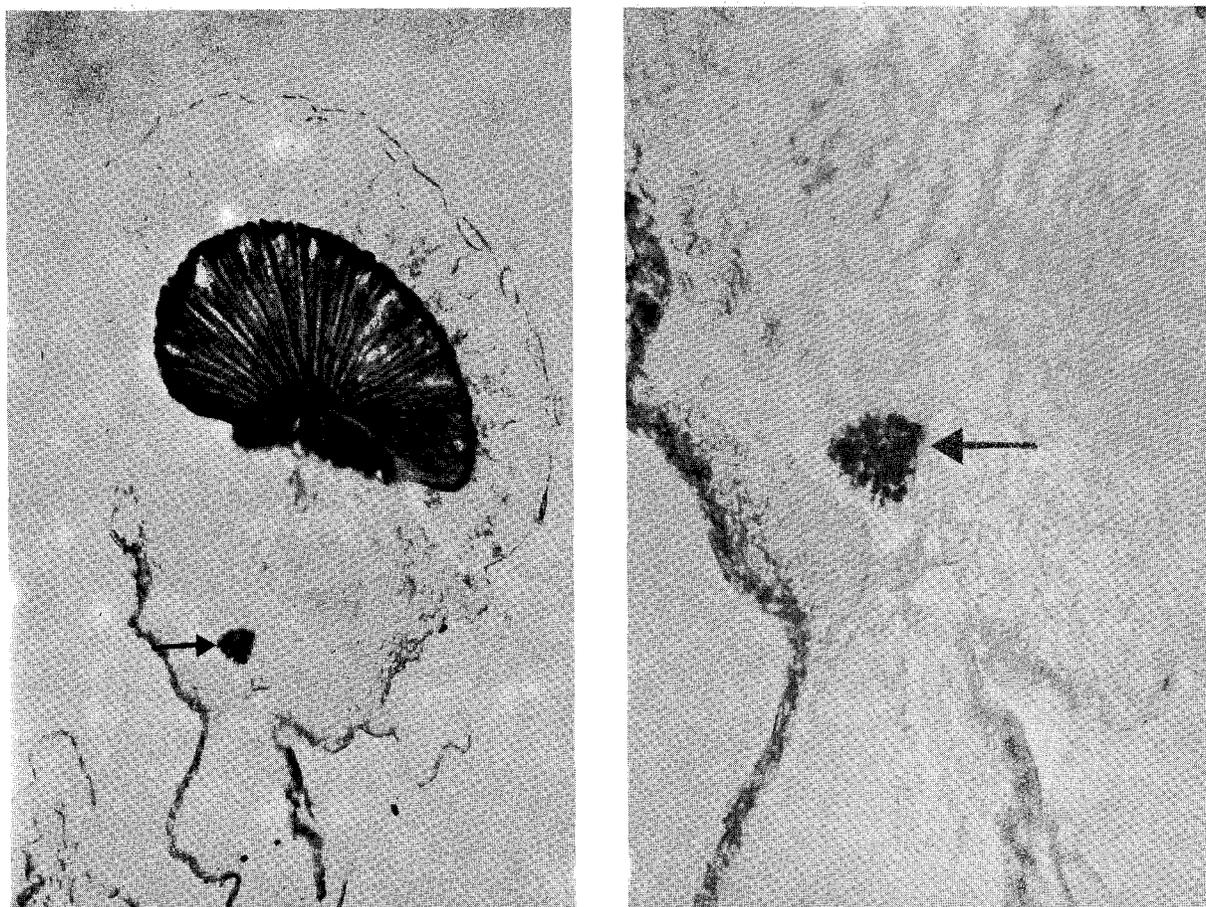


Figure 6 :

Localisation de l'hormone hyperglycémique dans la glande du sinus du pédoncule oculaire larvaire de Palaemon serratus.

Un anticorps anti-hormone hyperglycémique (CHH) d'Astacus leptodactylus est utilisé à une dilution 1/200.

La technique de la peroxydase est ensuite adaptée. On fait agir le sérum de chèvre 1/5 10 mn ; l'anticorps anti-CHH 12 h à 4°C ; le sérum antiglobuline de lapin 1/10 20 mn ; l'anticorps de lapin couplé à la peroxydase 1/25 20 mn. Entre chaque étape les coupes sont abondamment rincées au tampon tris-HCl, pH 7,6 contenant du NaCl 9 %. L'activité peroxydase est révélée par le 4-chloro-naphtol (résultats obtenus en collaboration avec F. Van Herp et W. Venroog et ayant bénéficié d'une subvention du CNRS et du gouvernement hollandais.

Flèche = glande du sinus du stade zoé 5 caractérisé par sa position ventrale différente de celle de la post-larve.

DISCUSSION :

La comparaison des activités spécifiques ne donne qu'une idée relative sur les variations de la concentration des enzymes digestives dans la mesure où le spectre des protéines dites "solubles" est différent chez les stades larvaires (VAN WORMHOUDT, 1978) et chez les différentes espèces étudiées.

Néanmoins, les Pénéidés semblent plus riches en enzymes digestives que les Palaémonidés.

Chez les 3 espèces étudiées il y a augmentation du rapport amylases/protéases au cours du développement qui pourrait traduire l'apparition d'un régime de plus en plus herbivore. L'augmentation est la plus faible chez Penaeus alors qu'elle est maximale chez Macrobrachium, espèce que l'on peut considérer comme la plus herbivore. Chez Penaeus les changements de phase sont très marqués.

Dans les 3 cas, l'augmentation initiale de l'activité des enzymes digestives est liée au démarrage de l'alimentation des larves : zoé 2 chez Palaemon ; zoé 3 chez Macrobrachium, nauplius 4 et 5 chez Penaeus.

Cette augmentation va de pair avec l'apparition du rythme circadien de variation des activités enzymatiques digestives.

Des modifications dans le régime de l'alimentation modifient les taux des activités enzymatiques digestives chez Palaemon serratus.

Chez les juvéniles de cette espèce une telle adaptation a pu être mise en évidence. Il s'agit globalement d'une adaptation de l'activité spécifique, c'est à dire de la concentration relative de l'enzyme. Nous avons vu par ailleurs que la quantité totale d'enzymes était plutôt fonction de l'état physiologique de l'animal (VAN WORMHOUDT, 1980).

Les mécanismes de contrôle sont mal connus d'autant plus que l'on cerne mal l'évaluation des quantités d'aliments réellement assimilés au cours de ces expériences.

D'autres facteurs de l'environnement interviennent, c'est le cas de la température (VAN WORMHOUDT, 1980) et de la lumière (VAN WORMHOUDT, 1976) bien étudiés par ailleurs (VAN WORMHOUDT, 1980).

Au niveau de la régulation, un des mécanismes envisagé chez la larve est de nature hormonale. L'existence d'un double contrôle hormonal de la synthèse des enzymes digestives chez les adultes de Palaemon serratus est connue (VAN WORMHOUDT, 1980). Le pédoncule oculaire contiendrait un facteur inhibiteur et un facteur stimulateur. L'organe Y serait stimulateur par l'intermédiaire de l'ecdystérone.

Dès le stade zoé 1 chez Palaemon serratus, on peut reconnaître l'existence d'un organe Y dont on ignore cependant le rôle physiologique (LE ROUX, 1977) mais qui ne semble pas à lui seul pouvoir produire les taux très élevés rencontrés au stade zoé 1. De telles valeurs élevées ont été signalées par BLANCHET et coll. (1979) au cours de l'embryogénèse.

Si l'on admet, comme chez l'adulte que le facteur stimulateur de la synthèse des protéines enzymatiques digestives est l'ecdystérone ou ses dérivés, on comprend que l'ablation des pédoncules oculaires chez les premiers stades où la concentration en ecdystéroïdes est très élevée soit sans effets sur l'activité des enzymes digestives. D'ailleurs l'organe de Bellonci qui pourrait accumuler les stéroïdes chez l'adulte ne se différencie vraiment qu'à partir du stade zoé 4 (BELLON-HUMBERT et coll., 1978) et c'est à la fin du développement larvaire qu'il serait fonctionnel.

Du point de vue des hormones peptidiques il ne semble pas y avoir de facteur inhibiteur de la synthèse des amylases chez les larves. Par contre, l'hormone hyperglycémique apparaîtrait très tôt au stade zoé 4 dans le pédoncule oculaire. Son rôle reste néanmoins à démontrer sur la glycémie mais peut être également au niveau du métabolisme général.

Au cours du développement larvaire on assiste donc à la mise en place du contrôle hormonal du métabolisme et en particulier de l'activité des enzymes digestives. Le facteur trophique déclenche et module l'activité des enzymes digestives selon la quantité et la qualité d'aliments présents.

Ainsi l'activité enzymatique constitue t'elle au niveau cellulaire l'intégration de nombreux facteurs du milieu.

L'étude des différentes étapes de cette régulation est nécessaire si l'on veut comprendre ce qui se passe dans le milieu naturel.

BIBLIOGRAPHIE

- AQUACOP (1977). Production de post-larves de Macrobrachium rosenbergii (DE MAN) en milieu tropical : unité pilote. 3nd meeting of the I.C.E.S. working group on Mariculture, Brest, Fr. May 10-13. Actes colloque CNEOX, 4, 213 - 232.
- BELLON-HUMBERT C., THYSSEN M.J.P., VAN-HERP F. (1978). Development, location and relocation of sensory and neurosensory sites in the eyestalk during the larval and post- larval life in Palaemon serratus (Pennant). J. Mar. Biol. Ass., 58, 859-868.
- BEN ABDELJLIL A. et DESNUELLE P. (1964). Sur l'adaptation des enzymes exocrines du pancréas à la composition du régime. Biochem. Biophys. Acta, 81, 136-149.
- BERNFELD P. (1955). Sur une méthode de dosage des amylases. In Methods in Enzymology, S.P. Colowick et N.O. Kaplan eds. Acad. Prim. New-York, 1, 149-154.
- BLANCHET M.F., PORCHERON P. et DRAY F. (1979). Variations du taux des ecdystéroïdes au cours des cycles de mue et de vitellogénèse chez le crustacé amphipode Orchestia gammarellus. Int. J. of Invert. Reprod., 1, 133-139.
- CAMPILLO A. et LUQUET P. (1975). Influence des taux de protéines sur la croissance pondérale de Palaemon serratus élevé au laboratoire. Rev. Trav. Int. Pêches Marit., 39, 4, 381-393.
- CAMPILLO A., REGNAULT M. et LUQUET P. (1975). Evolution des acides nucléiques au cours du développement larvaire de la crevette rose Palaemon serratus (Pennant). Rev. Trav. Inté. Pêches Marit., 39 (3), 333-342.
- CHARNEY et TOMARELLI R.M. (1947). A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. J. Biol. Chem., 171, 501-505.
- FORSTER J.R.M., BEARD T. . (1973). Growth experiments with the prawn Palaemon serratus (Pennant), fed with fresh and compounded foods. Fish Invest. Minist. Agri. Fish Food. G.B. ser. II, 27, 1-16.

- LAUBIER-BONICHON A. et L. LAUBIER (1976). Reproduction contrôlée chez la crevette Penaeus japonicus. Conférence de la FAO, Kyoto Japon.
- LAUBIER-BONICHON A., VAN WORMHOUDT A. et SELLOS D. (1977). Croissance larvaire contrôlée de Penaeus japonicus (Bate). Enzymes digestives et changement de régime alimentaire.
Acta Colloq. CNEOX, 4, 131-145.
- LE BAS F., GORRING T., COURTOT (1975). Formation and development of the enzyme apparatus of the exocrine pancreas of young rabbit from birth to weaning. Influence of the composition of diet.
Ann. Biol. Biochem. Biophys., 2, 399-413.
- LOWRY O.M., ROSEBROUGH M.J., FARR A., RANDALL R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent.
J. Biol. Chem., 193, 267-275.
- PORCHERON P. (1979). L'hormone de mue des arthropodes : dosage radioimmunologiques, production et divers aspects de son rôle physiologique.
Thèse de doctorat d'Etat, Paris VI, 181 p.
- REEVE M.R. (1969). The laboratory culture of the prawn Palaemon serratus
Fish. Invest. ser. 2, 26, 38 p.
- SOLLAUD E. (1923). Développement larvaire des palaemonidés.
Bull. Biol. Fr. et Belg., 17, 509-602.
- VAN WORMHOUDT A. et MALCOSTE R. (1976). Influence d'éclairements brefs à différentes longueurs d'onde sur les variations circadiennes des activités enzymatiques digestives chez Palaemon serratus.
J. Interdis. Cycl. research., 7 (2), 101-112.
- VAN WORMHOUDT A. (1980). Régulation d'activité de l' amylase à différentes températures d'adaptation en fonction de l'ablation des pédoncules oculaires et du stade de mue chez Palaemon serratus.
Biol. Syst. Ecol., 8, 193-203.

- VAN WORMHOUDT A. (1980). Adaptation des activités digestives, de leur cycle et de leurs contrôles aux facteurs du milieu chez Palaemon serratus.
Thèse doct. Etat, Marseille II, 351 p.
- VAN WORMHOUDT A. et SELLOS D. (1980). Acides nucléiques et enzymes digestives au cours de la croissance chez Palaemon serratus. Oceanol. Acta.
3 (1), 97-105.
- VAN WORMHOUDT A., CECCALDI H.J. et MARTIN B. (1980) Adaptation de la teneur en enzymes digestives en fonction des régimes chez Palaemon serratus (Crustacea Decapoda Natantia).
Aquaculture, 21, 63-78
- WICKINS J.F. (1972). Development in the laboratory culture of the common prawn Palaemon serratus (Pennant).
Invest. Minist. Agr. Fish Food (G.B.) ser. 2, 27, 4-23.