

MORPHOGENESE SEXUELLE ET REGULATION HORMONALE DE L'ACTIVITE GENITALE
CHEZ LA CREVETTE *PENAEUS JAPONICUS* EN ELEVAGE

LAUBIER A. (1) (2), CHIM L. (2) et PAYEN G.G. (3)

R E S U M E - L'étude de la physiologie sexuelle des crevettes Penaeidae, réalisée essentiellement sur l'espèce *Penaeus japonicus*, est abordée sous l'angle descriptif et expérimental à partir des élevages contrôlés réalisés au Centre Océanologique de Bretagne (CNEXO-COB) à Brest.

Dans la première partie du travail, une étude de la morphogénèse sexuelle a été réalisée. Cette étude préliminaire a permis d'obtenir des critères simples de détermination de l'état du développement génital des crevettes au cours de leur croissance.

Dans une deuxième partie, l'étude du contrôle neuroendocrine du développement de l'appareil génital a été abordée par des ablations de pédonculaires oculaires et par des injections d'extraits pédonculaires de mâles sur des crevettes épédonculées de même sexe. Enfin, dans une troisième partie, nous avons recherché un critère biochimique permettant d'éprouver l'action d'extraits pédonculaires sur la croissance de l'appareil génital. L'évolution de l'activité spécifique de l'aspartate transcarbamylase (ATCs) a été suivie et discutée.

A B S T R A C T - A study of the sexual physiology of penaeid prawns essentially based upon *Penaeus japonicus*, is performed in both descriptive and experimental ways, using the controlled rearings conducted at the Centre Océanologique de Bretagne (CNEXO-COB), Brest.

In a first part, the sexual morphogenesis is described. As a result, this preliminary study enables to define simple criteria for determination of the stage of genital development of the prawns during their growth.

In a second part, the neuroendocrine control of the genital system development is studied, using eyestalks ablations and male eyestalks extracts injections in prawns belonging to the same sex. In a third and final part, we have tried to find a biochemical criterion as a test of the effect of eyestalks extract injections on the genital system development. The evolution of the specific activity of aspartate transcarbamylase (ATC) has been followed and results are discussed.

Penaeus japonicus, élevage contrôlé, physiologie sexuelle, morphogénèse sexuelle, contrôle neuroendocrine de la reproduction.

Penaeus japonicus, controlled rearing, sexual physiology, sexual morphogenesis, neuroendocrine control of reproduction.

(1) Institut Océanographique, 195 rue Saint-Jacques, 75005 PARIS

(2) IFREMER, Centre de Brest, B.P. 337, 29273 BREST CEDEX

(3) U.P.M.C., Laboratoire "Sexualité et Reproduction des Invertébrés" - CNRS, ERA 070409, 4 place Jussieu - Bâtiment A, 75230 PARIS CEDEX 05.

Les Penaeïdes occupent une place privilégiée en tant que ressources de pêche ou d'aquaculture exploitable. Au plan économique, les pêches mondiales de Décapodes Natantia qui atteignent plus de 1 650 000 tonnes pour l'année 1980 (source FAO), comprennent pour un dixième à peine des crevettes Caridae (Pandalidés, Crangonidés, Palaemonidés) : le groupe des Penaeïdes représente à lui seul plus de 1 500 000 tonnes, chiffre en progression rapide depuis une vingtaine d'années (moins de 1 million de tonnes en 1968, 1,3 millions de tonnes en 1975). Ceci contribue à expliquer l'importance des travaux consacrés à ce groupe dont l'intérêt réside également dans une croissance très rapide. Sur les 300 espèces identifiées dans le monde, espèces littorales et espèces profondes, WICKINS et BEARD citent en 1978 le chiffre de 42 pays travaillant sur une cinquantaine d'espèces de Penaeïdes littorales, compte non tenu des espèces traditionnellement élevées dans les pays du Sud-Est Asiatique (Indonésie, Philippines, Malaisie, etc...). Ces auteurs totalisent à 80 les espèces de Penaeïdes exploitées par la pêche ou par l'aquaculture traditionnelle ou moderne à l'échelle mondiale (exactement 81 espèces appartenant à 13 genres différents, par rapport à un total actuel de 313 espèces).

Depuis 1960, et à la suite des travaux de Fujinaga (1942) de nombreuses fermes à crevettes Penaeïdes se sont implantées au Japon, la production de juvéniles étant obtenue à partir de femelles sauvages gravides capturées en mer et mises à pondre dans des écloséries (SHIGUENO, 1975). La disponibilité de géniteurs, problème primordial pour une éclosérie, est apparue d'autant plus sérieuse en France que l'espèce n'est pas indigène ; par contre, les premiers essais de grossissement réalisés à partir de 1973 ont démontré l'intérêt de *Penaeus japonicus* tant en métropole qu'en région tempérée chaude.

La reproduction en milieu contrôlé de *Penaeus japonicus* a été obtenue de manière fiable au Centre Océanologique de Bretagne (C.O.B.) en 1975 (LAUBIER-BONICHON, 1975, 1978) et a été renouvelée depuis sur six générations successives. Les difficultés liées à l'acclimatation de l'espèce aux conditions d'élevage sont désormais pour une grande part surmontées, mais de nombreux problèmes demeurent. Les uns font intervenir des études de génétique, base de l'approche de sélection en vue d'amélioration de l'espèce ; ce sujet est abordé par ailleurs (LAUBIER, PASTEUR et MORIYASU, sous presse), d'autres, nombreux, sont encore liés à l'obtention et au déclenchement des pontes.

Le rôle primordial des facteurs externes sur le déroulement des différentes étapes de la vitellogenèse a été démontré de façon incontestable dans nos élevages (LAUBIER-BONICHON, 1978), mais il s'agit là de l'approche première concernant le problème du comportement d'une espèce soumise à toute une série d'influences exteroceptives que l'on a donc pu identifier et quantifier (température, photopériode, nourriture, protection vis-à-vis des agressions : stress) et qui appartiennent au "reflexe neuroendocrinien". Les maillons intermédiaires représentés par les phénomènes d'intégration nerveuse et neuroendocrine, les mécanismes endocrines qui contrôlent la reproduction chez les Penaeïdes sont encore mal connus. Un certain nombre d'investigations existent toutefois chez quelques espèces de Crustacés Décapodes, Brachyours, Macroures ou Natantia Caridae (CHARNIAUX-COTTON, 1980 ; PAYEN, 1980). Mais, de plus, le caractère primitif des Penaeïdes rend intéressante la comparaison de ce groupe avec les autres Malacostracés. On peut songer à un modèle concernant la reproduction chez les crustacés.

Avant d'envisager l'approche endocrine de la reproduction des Penaeïdes, il nous est apparu indispensable de retracer, chez *Penaeus japonicus*, la séquence des étapes du développement des caractères sexuels externes d'une part, internes d'autre part, afin de définir ainsi les périodes d'action des facteurs endogènes conditionnant la différenciation de ces caractères et l'initiation de l'activité génitale. Une attention toute particulière a été portée à la zone germination, région bien individualisée des gonades et dans laquelle sont localisées les gonies de réserve. Une première approche avait déjà été réalisée par BIZOT-ESPIARD (1980) chez les mâles de *P. japonicus*.

Dans le cadre des recherches concernant le contrôle neuroendocrine du développement des caractères sexuels et de l'activité génitale, nous avons abordé une étude ultrastructurale et cytochimique de la glande androgène.

Enfin, dans la perspective de caractérisation du facteur neurohormonal pédonculaire régulant le développement de l'appareil génital, nous avons procédé à la mise au point d'un test biochimique de croissance.

MORPHOLOGIE SEXUELLE EXTERNE

Chez les Crustacés, on sait que la fonction de reproduction se met en place assez tard au cours du développement. Ayant affaire à des animaux sauvages, qui plus est des Invertébrés marins, on se heurte au problème de l'âge, âge biologique et âge physiologique étant indéterminables. Il est par conséquent difficile de préciser un âge correspondant à la puberté.

Nous avons été amenés dans un premier temps à consacrer une place importante à la définition des séquences du développement des caractères sexuels. En effet, les données relatives à la reproduction, et plus particulièrement au développement génital, nombreuses, sont également succinctes. Il était donc indispensable de définir de façon rigoureuse des critères précis et simples de détermination de l'état du développement génital au cours de la croissance de *Penaeus japonicus*. Ce travail préliminaire indispensable a été rendu possible puisqu'il a été réalisé sur des fratries de plusieurs milliers d'individus d'âge connu, élevés dans des conditions définies reproductibles d'un élevage à l'autre (LAUBIER-BONICHON, 1978). L'étude a porté d'une part sur la différenciation des caractères sexuels externes pour les deux sexes, d'autre part sur la différenciation de l'appareil génital, plus particulièrement chez le mâle, une étude de l'appareil génital des femelles et de son développement étant réalisée par ailleurs.

Chez les Crevettes Penaeïdes, les sexes sont séparés. Un dimorphisme sexuel net de certains caractères externes et de l'appareil génital existe (HELDT, 1938 ; PEREZ-FARFANTE, 1975 ; TIERNIEZI et JAVED, 1976 ; HABIB-UL-HOUSAN, 1981). La puberté, phase où sont acquis les caractères de fécondité et de reproduction de l'espèce, n'a jamais été décrite avec précision chez *P. japonicus*. Nous avons d'ailleurs pu constater que la puberté externe et la puberté génitale ne sont pas synchrones dans le même sexe.

La puberté externe correspond à l'acquisition de la forme fonctionnelle de caractères sexuels secondaires, les variants sexuels. Les critères morphologiques externes retenus ici sont chez le mâle l'appendix masculina et le petasma, chez la femelle le thélycum (ou réceptacle séminale) et les endopodites de la première paire de pléopodes. L'étude de leur différenciation nous a permis de définir la taille à partir de laquelle débute le dimorphisme sexuel. La mesure de référence utilisée pour caractériser les animaux dans ce travail est la longueur céphalothoracique (LC), distance qui sépare l'échancrure orbitaire de la marge postérieure du céphalothorax.

Chez *Penaeus japonicus*, on n'observe pas de différenciation sexuelle durant la première phase de vie qui recouvre l'ensemble des phases larvaires, nauplius, zoé, mysis, et la première partie des stades postlarvaires. Le premier caractère permettant de distinguer les femelles et les mâles est l'apparition chez ces derniers d'une dépression sur la face interne du protopodite de la première paire de pléopodes, au point d'insertion avec l'endopodite. On l'observe chez des individus dont la longueur céphalothoracique (LC) atteint 0,4 cm. Chez les individus un peu plus âgés (LC = 0,6 cm), et uniquement pour le sexe mâle, les endopodites de la première paire de pléopodes s'élargissent, se transformant en une lame triangulaire. Par la suite, le développement sur le bord interne de cette lame de formations en crochets, les cincinnuli, permettront la formation du pectasma par l'engrenage des deux endopodites. En même temps, c'est-à-dire pour une longueur céphalothoracique de 0,6 cm, on note le développement de l'appendix masculina, excroissance située à la base interne de l'endopodite de la deuxième paire de pléopodes ; il se présente sous la forme d'un simple lobe creusé du côté interne et muni à son bord libre de soies raides qui se développeront au cours de la croissance. Cet appendice fonctionne comme organe copulateur chez les Natantia Caridae ; dans l'état actuel de nos connaissances, on ne sait s'il joue un rôle dans la copulation chez les Penaeidae.

Chez les femelles, l'ébauche du thélycum se forme sur la face ventrale du 8ème sternite à partir d'une longueur céphalothoracique de 0,8 cm (CHIM, 1983). Jusqu'à cette taille, aucun caractère sexuel n'apparaît chez celles-ci et c'est donc ce manque de caractère sexuel chez les individus entre 0,4 et 0,8 cm de LC qui caractérise alors le sexe femelle. En outre, chez les femelles, les endopodites de la première paire de pléopodes restent atrophiés et subsistent sous forme d'une tigelette située à la face interne du protopodite.

Les ouvertures génitales de chaque sexe sont reconnaissables à partir d'une LC de 0,8 cm chez les mâles à la base des coxopodites des 5èmes péréiopodes chez les femelles au niveau des coxopodites de la 3ème paire de péréiopodes.

Des résultats complémentaires, obtenus par l'étude de la croissance relative (CHIM, 1983) du pectasma chez les mâles et de l'endopodite de la première paire de pléopodes chez les femelles, nous ont permis de distinguer trois étapes dans la croissance de *Penaeus japonicus* :

- l'étape juvénile pour les crevettes de LC comprise entre 0,25 cm et 0,8 cm ; elle correspond en partie à une phase indifférenciée sexuellement quant à la longueur de ces appendices, puisque leur sexualisation débute pour une LC de 0,6 cm chez le mâle.

- l'étape de prépuberté débute chez les animaux de LC moyenne de 0,8 cm et se termine à la "mue de puberté", lorsque la longueur céphalothoracique atteint 2 cm.

- l'étape de puberté se réalise à partir de la "mue de puberté" chez des animaux d'une LC moyenne de 2 cm.

L'ensemble des résultats obtenus est schématisé dans le tableau I. La phase juvénile se termine au moment de la différenciation des pores génitaux chez les mâles comme chez les femelles. La mue de puberté correspond à la réalisation de la forme définitive du thélycum chez les femelles, du pectasma chez les mâles. En ce qui concerne la croissance relative de l'appendix masculina, seules deux étapes sont mises en évidence, l'étape de prépuberté et l'étape de puberté.

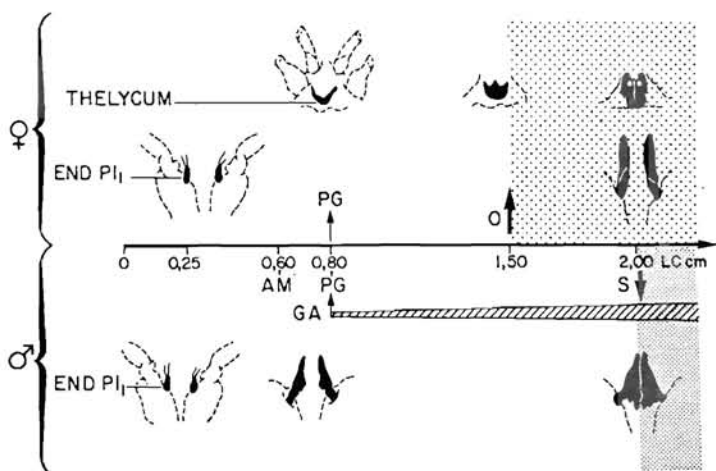


TABLEAU I - Récapitulation de quelques étapes de la morphogénèse sexuelle de *Penaeus japonicus*.
 AM, appendix masculina ; END PL1, endopodite de la première paire de pléopodes ; GA, glande androgène ; LC, longueur céphalothoracique ; O, démarrage de l'ovogénèse ; PG, pores génitaux ; S, démarrage de la spermatogénèse.

MORPHOLOGIE SEXUELLE INTERNE

La connaissance de la puberté externe ne permet pas de conclure quant à la puberté génitale ; cette dernière ne peut être comprise que par une étude de la gonade au cours de son développement. Nous avons cherché à établir des corrélations entre le développement des caractères sexuels externes d'une part, des appareils reproducteurs de l'autre. Nous ne traiterons ici que le cas des mâles.

Comme chez d'autres Crustacés déjà étudiés (PAYEN, 1980), on note pour la gonade de *Penaeus japonicus* une période d'indifférenciation morphologique et structurale qui recouvre toute la vie larvaire et les premiers stades postlarvaires. Avant le 8ème stade postlarvaire, les gonades se présentent sous forme de deux amas de cellules germinales associées à des cellules somatiques. Nous n'avons pas vu de voies déférentes jusqu'à ce stade. C'est à partir des 10ème et 11ème stades postlarvaires (LC = 0,25 cm) que l'on peut observer les spermiductes chez les mâles ; on note déjà une légère dilatation dans leur région distale, prémice de la formation de l'ampoule terminale. L'ébauche de la glande androgène n'apparaît qu'à un stade un peu plus tardif, pour une longueur céphalothoracique de 0,8 cm. Le développement des glandes androgènes, qui se réalise donc après le début de la différenciation sexuelle, pose le problème de la différenciation du sexe chez les Penaeides.

A partir d'une taille correspondant à 0,8 cm de LC, quand les glandes androgènes s'individualisent, on observe des mitoses goniales dans les testicules. C'est à ce stade que les ouvertures génitales sont visibles. La méiose mâle ne s'engage que plus tard, lorsque la longueur céphalothoracique atteint 2 cm ; les spermiductes acquièrent à cette taille leur forme définitive et les premières sécrétions y sont détectées. En même temps a lieu l'engrenage des deux endopodites différenciés de la première paire de pléopodes pour former le pétasma. Faut-il attribuer l'ensemble des modifications qui conduisent à la maturité sexuelle mâle à l'activité de la glande androgène ? Un tel synchronisme a été signalé par l'un d'entre nous (PAYEN, 1974) chez des Décapodes Reptantia. Des données complémentaires sont nécessaires.

Une description précise des différentes régions de l'appareil génital mâle de *Penaeus japonicus* a été faite au C.O.B. par BIZOT-ESPIARD (1980). Au cours de ces recherches, un certain nombre de problèmes n'avaient pu être abordés, en particulier celui de la différenciation des testicules, et celui de la spermatogénèse, que nous traitons ici.

GAMETOGENESES

Chez les mâles de LC inférieure à 0,8 cm, les gonades sont organisées en tubules testiculaires ramifiés formant des groupes de réseaux, disposés symétriquement de part et d'autre d'un canal collecteur unique en "fer à cheval". Cette organisation en réseau n'a jamais été mise en évidence chez d'autres Malacostracés (CHIM, 1983). Chez les mâles pubères, les gonades sont formées de lobes, chaque lobe testiculaire étant constitué de tubules, unités fonctionnelles dans lesquelles se déroule la spermatogénèse. L'examen histologique des tubules testiculaires déroulés nous a permis de vérifier que la zone germinative est continue. Cette zone contient des gonies primaires mêlées à des cellules mésodermiques. Les gonies primaires, donc non engagées dans la gamétogénèse, effectuent des mitoses constituant la réserve de cellules germinales.

Un examen ultrastructural révèle l'existence de desmosomes entre les digitations des cellules mésodermiques ; la présence de jonctions entre les cellules mésodermiques de la zone germinative n'avait jamais été signalée chez les Crustacés. Enfin, contrairement aux Malacostracés étudiés, une distinction morphologique nette est faite chez *Penaeus japonicus* entre nuages et corps chromatoides, formations cytoplasmiques souvent confondues dans la littérature. Les corps chromatoides apparaissent dans les spermatocytes primaires et coexistent avec les nuages, marqueurs caractéristiques des cellules germinales primordiales et des gonies. Les gonies secondaires sont situées en dehors de la zone germinative et ne sont pas emprisonnées dans le réseau de tissu somatique.

L'étude de la spermatogénèse nous a permis de montrer que chez *P. japonicus* la périodicité de sortie des gonies de la zone germinative donne au fonctionnement du testicule un caractère cyclique.

Cinq types d'association de cellules germinales représentatifs de cinq phases constituant le cycle spermatogénétique ont été définis au niveau des tubules testiculaires de *P. japonicus*. La durée relative de chaque phase a été évaluée statistiquement par l'observation histologique de 1 037 sections de tubules testiculaires :

- la phase I occupe 35 % de cycle total. Elle se caractérise par la présence des spermatogonies II issues de spermatogonies primaires (qui sortent de la zone germinative). Des spermatides sont également présentes.

- la phase II a une durée relative de 13 %. Les spermatogonies II entrent de façon synchrone en prophase de méiose et se transforment en spermatocytes I que l'on observe en leptotène. Des spermatozoïdes sont visibles.

- la phase III constitue 10 % du cycle total. Elle compte des spermatocytes I en zygotène-pachytène qui occupent le tubule testiculaire, refoulant les spermatozoïdes dans le canal collecteur.

- la phase IV est la plus longue du cycle. Elle représente 40 % du cycle total. On reconnaît la zone germinative et des spermatocytes I zygotène-pachytène.

- la phase V ne dure que 2 % du cycle total. Des spermatocytes II coexistent avec des spermatogonies II et la zone germinative.

GLANDE ANDROGENE

En ce qui concerne la glande androgène, les premières recherches chez *Penaeus japonicus* ont été tentées par BIZOT-ESPIARD (1980). Par la suite, nous avons pu l'identifier nettement chez des animaux de longueur céphalothoracique de 0,8 cm grâce à la présence d'un ruban de tissu conjonctif. Situées dans la région subterminale des spermiductes, les glandes androgènes (G.A.) ont fait l'objet d'une étude ultrastructurale et cytochimique. Jusqu'alors, aucune description cytochimique de glande androgène n'avait été réalisée. Seuls les résultats préliminaires sont présentés (PAYEN et al., 1982) Planche I.

Comme chez les Amphipodes, les Isopodes et les Décapodes déjà étudiés, le rapport nucléocytoplasmique des cellules androgènes de *P. japonicus* est élevé et le cytoplasme renferme un réticulum endoplasmique granulaire très développé. Nous avons mis en évidence des particules β de glycogène par la réaction de Thiéry après action de la thiocarbohydrazide durant 20 minutes. Des corps denses aux électrons, digérés partiellement après traitement par la pronase et ayant une activité phosphatasique acide sont également caractéristique des GA des mâles fonctionnels ; ce sont des lysosomes. Des jonctions de type gap et des desmosomes primaires ou plaques d'attachement assurent les contacts intercellulaires. Des hémocytes participent à la résorption des zones de cytolysse. Les cellules en dégénérescence accumulent le glycogène ; elles sont souvent séparées par des faisceaux de fibrilles de collagène dont la visualisation a été facilitée par traitement à l'acide tannique.

A cet ensemble de caractères ultrastructuraux et cytochimiques, il convient d'ajouter que le fait d'avoir observé des portions de la musculature du spermiducte emprisonnées dans des massifs de cellules androgènes est fortement en faveur de l'origine génitale des organes androgènes. Il faut rappeler que le problème de la formation de ces organes n'est toujours pas résolu chez les Malacostracés.

CONTROLE NEUROENDOCRINE DU DEVELOPPEMENT DES CARACTERES SEXUELS ET DE L'ACTIVITE GENITALE

Chez les Décapodes, la fonction neuroendocrine des pédoncules oculaires est bien démontrée, le complexe neurosécréteur - organe X - glande du sinus exerçant un effet inhibiteur sur l'activité ovarienne d'une part, et sur le développement des glandes androgènes et de l'appareil génital mâle d'autre part (KLEINHOLZ et KELLER, 1979). Les effets de l'ablation d'un pédoncule oculaire sont utilisés de façon empirique chez les femelles de *Penaeus*

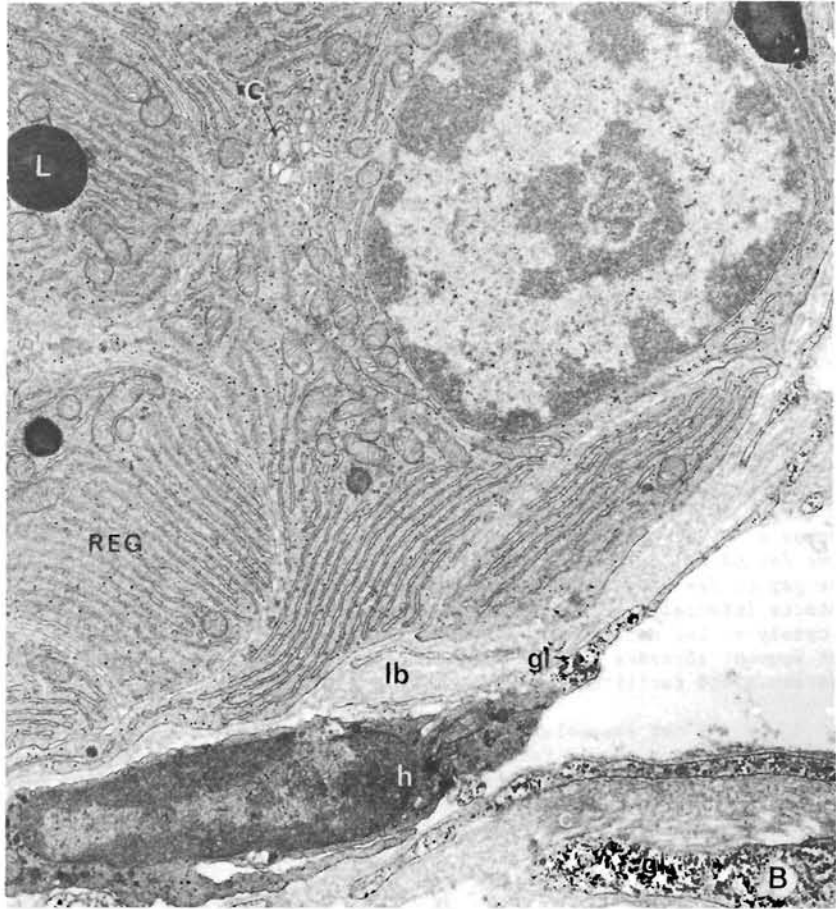
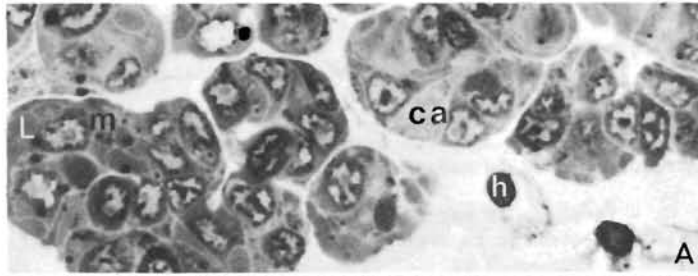


PLANCHE I - Glande androgène de *Penaeus japonicus* prélevée chez un mâle pubère fonctionnel.

A. Coupe semi-fine montrant l'agencement des cellules androgènes en cordons repliés (ca) et en massifs (m) (x 3 200).

B. Mise en évidence du glycogène (thiocarbohydrazide : 20 minutes).
 Noter la répartition des particules β dispersées entre les citernes du réticulum endoplasmique dont la granulation est peu visible par suite du traitement cytochimique (x 19 200, sans contraste).

c, collagène ; G, appareil de Golgi ; gl, glycogène ; h, hémocyte ; L, lysosome ; lb, lame basale.

en aquaculture afin d'accélérer les pontes. Mais une approche plus rationnelle de cette pratique était nécessaire. Dans ce travail, nous ne relaterons que les résultats obtenus chez les mâles ; il faut préciser que pour l'ensemble des Décapodes mâles, la preuve de l'existence d'une neurohormone pédonculaire responsable de l'inhibition de la croissance de l'appareil génital restait à fournir.

Notre approche a consisté à étudier l'effet de l'épédonculation et l'action d'extraits de pédoncules oculaires de mâles chez des animaux épédonculés. Les résultats sont publiés (CHIM et al., 1983) ; un bref résumé est donné ici.

Chez les crevettes mâles juvéniles et prépubères, l'épédonculation entraîne un développement accéléré des caractères sexuels internes et externes ; au niveau de l'appareil génital, on observe une initiation précoce de la spermatogénèse et du fonctionnement des spermiductes, les glandes androgènes ont une croissance accélérée, le diamètre de l'ampoule terminale (dAT) s'accroît de façon importante par rapport à celui des crevettes témoins de même LC, il est supérieur à 40 %.

Chez ces animaux, on note une morphogénèse plus rapide du pétasma et de l'appendix masculina qui acquièrent précocement leur forme définitive. Tout se passe comme si, durant les étapes juvénile et prépubère, les pédoncules oculaires exerçaient donc une répression sur le développement de l'appareil génital et des caractères sexuels secondaires, celle-ci, dans les conditions normales, étant levée à la puberté. La suppression de l'inhibition pédonculaire par ablation des pédoncules oculaires entraîne donc une puberté précoce chez les jeunes crevettes.

Chez les crevettes pubères, LC supérieure à 2 cm, les épédonculations provoquent en quelques jours une augmentation sensible de l'activité génitale et de la glande androgène. Le diamètre de l'ampoule terminale (dAT) est supérieur à celui des crevettes non opérées ; pour une même longueur céphalothoracique, ce diamètre augmente d'environ 40 %. Chez des animaux épédonculés depuis deux mois, la spermatogénèse est perturbée et apparaît bloquée à deux niveaux : au stade gonies primaires et au stade spermatoctes primaires. Il semble donc que les pédoncules oculaires ont un effet freinateur sur l'activité génitale des animaux pubères ; ils apparaissent nécessaires à la réalisation de la gamétogénèse mâle.

Nous avons étudié les effets d'injections d'extraits pédoncutaires totaux de *Penaeus vannamei* mâles chez des mâles épédonculés de *Penaeus japonicus*.

- Test biologique

Les variations du plus grand diamètre de l'ampoule terminale (dAT) -région distale bien différenciée du spermiducte dans laquelle s'accumulent les spermatophores mûrs chez les mâles fonctionnels- en fonction de la LC des Crevettes, ont été retenues comme critère pour étudier l'action des différentes interventions expérimentales sur le développement de l'appareil génital. L'ampoule terminale, orientée de façon définie, est mesurée à l'aide d'un projecteur de coupes (type Nikon V 12).

** Extraits préparés par le Professeur L.H. KLEINHOLZ (Portland, Oregon, U.S.A.) à partir de pédoncules oculaires de *Penaeus vannamei* fournis par le Dr. SHLESER de l'Institut Océanique d'Hawaï.

- Méthode statistique.

Les dAT moyens sont comparés par une analyse de covariance selon la méthode des Y ajustés qui permet de tenir compte de la variation de la LC. Le dAT moyen ajusté pour une même LC est ensuite calculé.

Les effets de l'injection d'extraits de PO sur la morphogénèse de l'appareil génital mâle ont été étudiés en fonction du test d'activité décrit ci-dessus. L'analyse de covariance montre qu'il existe une différence hautement significative entre les *P. japonicus* ayant subi l'ablation des PO puis injectées avec de l'eau de mer et les crevettes témoins non opérées ($P < 0,005$). En ce qui concerne les *P. japonicus* épédonculées et traitées par un extrait non chauffé de *P. varnamei* mâles et celles traitées par l'eau de mer, aucune différence ne peut être relevée ($P > 0,05$). En revanche, des différences significatives existent entre les traitements par l'extrait pédonculaire chauffé de *P. varnamei* mâles et l'eau de mer d'une part ($P < 0,01$), entre les traitements par l'extrait chauffé et non chauffé d'autre part ($P < 0,005$).

L'injection d'extraits pédonculaires de Crevettes Penaeides mâles chez des mâles épédonculés appartenant à la même famille nous a donc permis de démontrer l'action inhibitrice d'un facteur pédonculaire thermostable sur le développement accéléré de l'appareil génital mâle de *P. japonicus*. Ces résultats permettent de conclure également que le contrôle pédonculaire inhibiteur -ou plus exactement modérateur- du développement de l'appareil génital mâle est du type neurohormonal.

Chez les Décapodes mâles, l'existence d'un contrôle pédonculaire inhibiteur de la croissance de l'appareil génital est donc admise. Toutefois, jusqu'à présent, nous ne possédons aucun indice biologique suffisamment sensible qui donne une estimation de l'action d'extraits de pédoncules oculaires sur la croissance de l'appareil génital mâle. Le besoin d'un indice plus rapide que celui faisant intervenir une réponse morphogénétique, délicate à apprécier et s'étendant par ailleurs sur un temps assez long, 14 jours, avec un taux de mortalité relativement élevé lié aux opérations, est évident. Sans cet indice, il est difficile d'envisager de procéder à la purification du ou des facteurs pédonculaires inhibiteurs de la croissance de l'appareil génital mâle.

L'évolution de l'activité spécifique de l'aspartate transcarbamylase (ATCs), une enzyme impliquée dans la synthèse des bases pyrimidiques, constituants des acides nucléiques, est considérée comme un bon indice de croissance. En effet, l'aspartate transcarbamylase (ATC) intervient au début de la chaîne de réactions enzymatiques de biosynthèse des bases pyrimidiques. Des corrélations entre le taux d'activité de l'enzyme et la multiplication cellulaire ont été démontrées dans de nombreux tissus, végétaux (STEIN et COHEN, 1959) et animaux au niveau de tumeurs (CALVA et al., 1959), foetaux ou en régénération (NORDMANN et al., 1964 ; KIM et COHEN, 1965 ; HERZFELD et KNOX, 1972 ; WAYMURE et NISHIKAWARA, 1972). Enfin des corrélations entre l'activité de l'ATC de gonades du Mollusque *Pecten maximus* et le taux de croissance relative ont été mises en évidence (BERGERON et ALAYSE-DANET, 1981).

La mise en activité rapide et précoce de l'appareil génital après épédonculation supposant une importante demande en bases pyrimidiques pour la synthèse des nucléotides, nous nous sommes intéressés à étudier les variations

de l'activité de l'enzyme régulant la première réaction de la voie de biosynthèse des bases pyrimidiques : l'Aspartate Transcarbamylase (ATC). Le niveau de son activité devrait donc être représentatif du taux de formation des bases pour la synthèse des acides nucléiques nécessaires aux multiplications cellulaires (synthèse d'ADN) et à la transcription (synthèse d'ARN). Le dosage de l'activité de cette enzyme a donc été effectué dans les appareils génitaux de mâles dans différentes conditions expérimentales (CHIM et al., 1983).

Chez les mâles, il existe une étroite relation temporelle entre l'évolution de l'activité spécifique de l'ATC (ATCs) et celle de l'appareil génital. La période pubertaire (initiation de la spermatogénèse et du fonctionnement des spermatozoaires) est caractérisée par une élévation rapide de l'activité spécifique jusqu'à une valeur maximale proche de 20 (nmoles/mn/mg de protéines). C'est durant cette période que débute la phase de croissance rapide de l'appareil génital, comme le prouve sa croissance pondérale.

L'épédonculation bilatérale pratiquée chez des mâles juvéniles et juste pubères n'entraîne pas, après 60 et 100 heures, de modification du niveau moyen des ATCs. Par contre, la même opération effectuée chez des Crevettes pubères (d'une LC moyenne de 3,1 cm), provoque une élévation significative de la valeur moyenne des ATCs, 30 heures après l'opération. Cette élévation de l'activité enzymatique doit être mise en relation avec les données qui montrent une croissance plus rapide de l'appareil génital mâle quelques jours après épédonculation.

L'ensemble des résultats met donc en évidence une relation entre le niveau d'activité de l'ATC et l'évolution fonctionnelle de l'appareil génital mâle. De plus, le niveau d'ATCs ainsi que la croissance de l'appareil génital apparaissent inhibés par les pédonculaires oculaires.

Des expériences d'injection de différentes fractions purifiées de PO chez des mâles montrent que l'une de ces fractions est capable d'inhiber significativement l'activité spécifique de l'Aspartate Transcarbamylase. Le facteur responsable de cette inhibition est thermostable et serait une petite molécule puisqu'elle est éluee dans la même zone que la DRPH (Distal Retinal Pigment Light-Adapting Hormone), hormone pédonculaire dont le poids moléculaire est estimé entre 2 000 et 3 000. L'Aspartate Transcarbamylase apparaît donc comme un bon indice biochimique pouvant être utilisé pour tester l'activité inhibitrice d'extraits purifiés de PO sur la croissance de l'appareil génital mâle.

BERGERON J.P. et ALAYSE-DANET A.M., 1981 - L'aspartate transcarbamylase de la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* L. (Mollusque Lamellibranche) : méthode de dosage et variations de l'activité dans le manteau et la gonade. J. exp. mar. Biol. Ecol., 50, p. 99-117.

BIZOT-ESPIARD A., 1980 - Croissance et reproduction de la crevette *Penaeus japonicus* (Bate) en élevage. Effet de l'épédonculation, histologie de l'appareil génital mâle. Thèse de 3^e cycle, Université de Bretagne Occidentale, 168 p.

CALVA E., LOWENSTEIN J.M. et COHEN P.P., 1959 - Carbamyl phosphate-aspartate transcarbamylase activity in tumors. Cancer Research, 19, p. 101-103.

CHARNIAUX-COTTON H., 1980 - Experimental studies of reproduction in Malacostraca crustaceans. Description of vitellogenesis and of its endocrine control. in Adv. Inv. Reprod., W.H. Clark et T.S. Adams, Ed., p. 177-185.

CHIM L., 1983 - La morphogénèse sexuelle, la gamétogénèse et leur contrôle neuro-hormonal chez la Crevette *Penaeus japonicus* Bate : utilisation de l'aspartate transcarbamylase comme indice de croissance de l'appareil génital. Thèse de 3^e cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 107 p.

- CHIM L., BERGERON J.P., PAYEN G.G. et LAUBIER-BONICHON A., 1983 - L'Aspartate Transcarbamylase : indice biochimique de croissance de l'appareil génital de la crevette *Penaeus japonicus*. VII^e Réunion des Carcinologistes de Langue Française, Liège, 29 août - 2 septembre 1983.
- CHIM L., KLEINHOLZ L.H., PAYEN G.G. et LAUBIER-BONICHON A., 1983 - Effet inhibiteur d'un extrait de pédoncules oculaires de la crevette mâle *Penaeus vannamei* Boone sur le développement précoce de l'appareil génital du mâle épédonculé de *P. japonicus* Bate. C.R. Acad. Sci. Paris, sér. III, 296, p. 185-190.
- FUJINAGA M., 1942 - Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. Journ. Zool., 10, p. 305-393.
- HABIB-UL-HASSAN, 1981 - The genital organs and their development in *Metapenaeus affinis* (Decapoda, Penaeidae), studied through rearing them in the laboratory. Hydrobiologia, 78 (1), p. 49-58.
- HELDT J.H., 1938 - La reproduction chez les Crustacés Décapodes de la famille des Penaeides. Ann. Inst. Oceanogr., 18, p. 31-206.
- HERZFELD A. et KNOX W.E., 1972 - Aspartate transcarbamylase concentrations in relation to growth rates of fetal, adult and neoplastic rat tissue. Cancer Research, 32, p. 1842-1847.
- KLEINHOLZ L.H. et KELLER R., 1979 - Endocrine regulation in Crustacea. Hormones and Evolution, vol. I, Barrington E. J. W. Ed., Academic Press, p. 160-243.
- 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, sér. D, 281, p. 2013-2016.
- LAUBIER-BONICHON A., 1978 - Ecophysiologie de la reproduction chez la crevette *Penaeus japonicus*. Trois années d'expérience en milieu contrôlé. Oceanol. Acta, 1 (2), p. 135-150.
- LAUBIER-BONICHON A., PASTEUR N., MORIYASU M. - Polymorphisme enzymatique d'une population de *Penaeus japonicus* maintenue en élevage depuis quatre générations. Oceano. Acta, sous presse.
- NORDMANN Y., HURWITZ R. et KRETCHMER N., 1964 - Activity of aspartate transcarbamylase in heart and liver of the developing rat. Nature, 201, p. 616-617.
- PAYEN G.G., 1980 - Aspects fondamentaux de l'endocrinologie de la reproduction chez les Crustacés marins. Oceanis, 6 (3), p. 309-339.
- PAYEN G.G., CHIM L., LAUBIER-BONICHON A. et CHARNIAUX-COTTON H., 1982 - The androgenic gland of the shrimp *Penaeus japonicus* Bate. Description, role and control by the eyestalks. Gen. Comp. Endocrinol., 46 (3), p. 384.
- PEREZ-FARFANTE I., 1975 - Spermatophores and thelyca of the American white Shrimps, genus *Penaeus*, Subgenus *Litopenaeus*. Fish. Bull., 73 (3), p. 463-486.
- SHIGUENO K., 1975 - Shrimp culture in Japan. Assoc. Intern. Techn. Promotion Ed., Tokyo, 153 p.
- TIRMIZI N.M. et JAVED W., 1976 - Study of juveniles of *Metapenaeus stebbingi nobili* (Decapoda, Penaeidae) with particular reference to the structure and development of the genitalia. Crustaceana, 30 (1), p. 55-67.
- STEIN L.I. et COHEN P.P., 1965 - Correlation of growth and aspartate transcarbamylase activity in the higher plants. Arch. Biochem. Biophys., 109, p. 429-433.
- WAYMIRE J.C. et M.T. NISHIKAWARA, 1972 - Increased aspartate carbamyltransferase activity in compensatory renal growth. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 139 (4), p. 1398-1400.
- WICKINS J.F. et BEARD T.W., 1978 - Prawn culture research. Minist. Agric. Fish. Food., Dir. Fish. Res. Lab. Leaflet. Lowestoft, 42, p. 1-41.