

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

~~Handwritten scribble~~
B/250

T H E S E

EXCLU
DU PRET لايعار

présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc
pour obtenir le Diplôme de DOCTORAT
Spécialité : PHYSIOLOGIE, BIOLOGIE DES ORGANISMES ET DES POPULATIONS

*

Inscrit sous le N° M.o.6...
Date le 2007
Cote

**ONTOGENESE DE L'OSMOREGULATION
CHEZ LA CREVETTE
PENAEUS JAPONICUS**

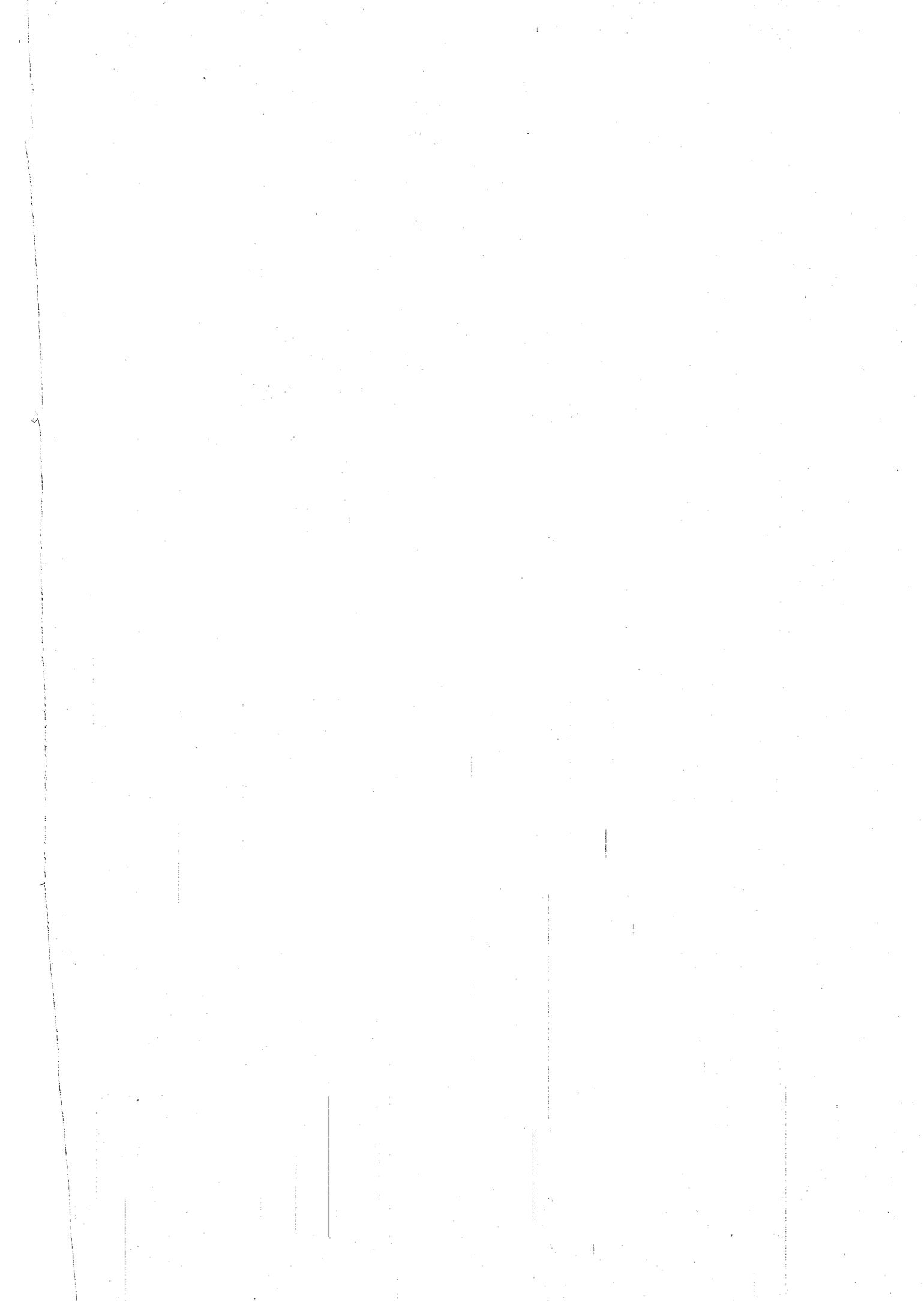
par

Nacéra BOUARICHA

Soutenue le 2 Juin 1990 devant le Jury composé de :

MM.	J. P.	TRILLES	Président
Mle	G.	PAYEN	
MM.	G.	CHARMANTIER	
	A.	RAIBAUT	
	L.	THALER	
	P.	THUET	
	J. P.	TRUCHOT	

A la mémoire de mon père



SOMMAIRE

INTRODUCTION	7
CHAPITRE I <i>Penaeus japonicus</i>	13
1-1 Position systématique	15
1-2 Morphologie externe	15
1-3 Distribution	17
1-3-1 Répartition géographique	17
1-3-2 Répartition bathymétrique	20
1-3-3 Déterminisme des changements de répartition	21
1-4 Biologie	21
1-4-1 Reproduction	21
1-4-1-1 Sexualité	21
1-4-1-2 Maturation	21
1-4-1-3 Accouplement	22
1-4-1-4 Fécondation	22
1-4-1-5 Ponte	22
1-4-2 Les stades larvaires	23
1-4-2-1 Stade nauplius	23
1-4-2-2 Stade zoé	23
1-4-2-3 Stade mysis	25
1-4-3 Les stades post-larvaires.....	25
1-4-4 Le stade adulte	25
CHAPITRE II Elevage de <i>Penaeus japonicus</i>	29
2-1 Historique	31
2-2 Elevage	32
2-2-1 Les méthodes modernes d'élevage	32

2-2-1-1	Obtention des pontes	32
2-2-1-2	Elevage larvaire	34
2-2-1-3	Prégrossissement	36
2-2-1-4	Prégrossissement et acclimatation au milieu naturel	36
2-2-1-5	Grossissement	37
2-2-2	Alimentation	39
2-3	Les perspectives de l'aquaculture des crevettes en France	40
CHAPITRE III Matériel et méthodes		45
3-1	Identification des stades de développement	47
3-2	Détermination des stades du cycle de mue	51
3-3	Microscopie	51
3-3-1	Microscopie photonique	51
3-3-2	Microscopie électronique à balayage.....	54
3-3-3	Microscopie électronique à transmission	54
3-4	Tolérance à la salinité et osmorégulation	55
3-4-1	Tolérance à la salinité.....	55
3-4-2	Osmorégulation	56
3-5	Mesure de l'activité de l'ATPase Na^+ - K^+ et de l'anhydrase carbonique	56
3-5-1	Préparation des échantillons	56
3-5-2	Mesure de l'activité de l'ATPase Na^+ - K^+	57
3-5-3	Mesure de l'activité de l'anhydrase carbonique	59
3-6	Calculs statistiques	59

CHAPITRE IV Ontogénèse des structures osmorégulatrices	61
4-1 Introduction	63
4-2 Etude morphologique des branchies	64
4-2-1 Nombre de branchies et formule branchiale	64
4-2-2 Forme et dimension des branchies	67
4-2-3 Morphologie des branchies	67
4-3 Etude histologique de la branchie de l'adulte de <i>Penaeus japonicus</i>	69
4-4 Branchies et autres structures osmorégulatrices au cours du développement de <i>Penaeus japonicus</i>	71
4-4-1 Branchies	71
4-4-1-1 Chez les larves	71
4-4-1-2 Chez les post-larves	73
4-4-1-3 Chez les juvéniles et adultes.....	75
4-4-2 Autres structures épithéliales différenciées	77
4-4-2-1 Chez les larves	79
Chez la zoé 2.....	79
Chez la mysis 3.....	81
4-4-2-2 Chez les post-larves	85
4-4-2-3 Chez l'adulte	89
4-5 Discussion et conclusion	92
4-5-1 Les branchies	92
4-5-2 Les autres structures osmorégulatrices	95
4-5-2-1 Branchiostégite et pleure.....	95
4-5-2-2 L'épipodite	97
4-6 Résumé	101

CHAPITRE V Tolérance à la salinité et osmorégulation	105
5-1 Introduction	107
5-2 Résultats	112
5-2-1 Tolérance à la salinité	112
5-2-1-1 Tolérance aux faibles salinité à 25°C	112
5-2-1-2 Tolérance des stades post-larvaires aux faibles salinités à différentes températures	114
5-2-1-3 Tolérance des stades post-larvaires aux milieux concentrés	114
5-2-2 Osmorégulation	116
5-2-2-1 Temps d'adaptation	116
5-2-2-2 Capacité osmorégulatrice	116
5-3 Discussion et conclusion	120
5-3-1 Tolérance à la salinité	120
5-3-1-1 Tolérances aux faibles salinités à 25°C	120
5-3-1-2 Influence de la température sur la tolérance aux faibles salinités	123
5-3-1-3 Tolérance aux milieux concentrés	125
5-3-2 Osmorégulation	126
5-3-2-1 Temps d'adaptation	126
5-3-2-2 Capacité osmorégulatrice	126
5-3-3 Relation entre les capacités osmorégulatrices et la tolérance aux faibles salinités.....	129
5-3-4 Application en élevage ou en milieu naturel	130
5-3-5 Résumé	131

CHAPITRE VI	Activités de l'ATPase Na⁺- K⁺ et de l'anhydrase carbonique	135
6-1	Introduction	137
6-2	Résultats.....	139
6-2-1	Activité de l'ATPase Na ⁺ - K ⁺ en fonction du stade de développement	139
6-2-1-1	Larves et post-larves entières.....	139
6-2-1-2	Post-larves : céphalothorax isolés	139
6-2-1-3	Adultes : branchies, branchiostégite, épipodites	139
6-2-2	Activité de l'anhydrase carbonique	139
6-3	Discussion et conclusion	143
6-3-1	Activité de l'ATPase Na ⁺ - K ⁺	143
6-3-2	Activité de l'anhydrase carbonique	145
6-4	Résumé.....	146
DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALES	149
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	159

INTRODUCTION

Le thème de ce travail concerne la tolérance à la salinité et l'osmorégulation d'une espèce de crevette Pénéide, *Penaeus japonicus*. Ce sujet a été choisi pour divers motifs fondamentaux et appliqués.

1 - L'étude fondamentale de la métamorphose physiologique des Crustacés présente un intérêt certain. En effet, si les phénomènes métamorphiques sont bien connus chez les Insectes et les Amphibiens, ils le sont beaucoup moins chez les Crustacés. Dans ce groupe, la plupart des travaux concernant la métamorphose ont abordé jusqu'à maintenant les changements morphologiques et écologiques qui l'accompagnent. Les modifications physiologiques qui accompagnent la métamorphose des Crustacés sont encore mal connues et méritent d'être étudiées. *P. japonicus* représente un bon modèle d'étude du fait de ses caractéristiques de développement. Les stades larvaires et la transition métamorphique vers les stades post-larvaires ont été décrits en détail par HUDINAGA (1942). Ces bases morphologiques ont permis d'orienter nos travaux vers l'étude des modifications physiologiques accompagnant la métamorphose, en particulier les modifications du métabolisme hydrominéral. Après la métamorphose, *P. japonicus* change de milieu de vie. Dans le milieu naturel, les stades larvaires vivent en pleine mer et ne rencontrent pratiquement pas de problèmes d'osmorégulation puisque la salinité est relativement stable, par contre, les stades post-larvaires deviennent côtiers et sont par conséquent soumis aux fluctuations de ce facteur. Comment réagissent-ils alors à ces variations ? Quels sont les moyens physiologiques mis en oeuvre par les post-larves pour supporter de telles variations ? De plus, cette espèce est intéressante car elle est disponible dans les écloséries. En effet, la station aquacole de l'IFREMER de Palavas-les Flots (Deva-Sud-Hérault), assez proche de notre laboratoire et dotée d'une éclosérie, nous a permis un approvisionnement annuel en matériel biologique.

2 - Les Pénéides ont un grand intérêt économique dans le monde et en France. Il existe trente quatre espèces de Pénéides connues et pêchées. Plusieurs de ces espèces ont une haute valeur commerciale et dans certaines régions du monde font l'objet d'une pêche importante (golfe du Mexique, de Guinée, Asie du Sud-Est) et d'une aquaculture traditionnelle en bassins associée ou non à des poissons (Japon, Indonésie, Philippines, Malaisie, Equateur, etc...) ; Ces crevettes présentent des potentialités intéressantes pour l'élevage et ont des atouts importants en aquaculture, notamment :

- * une croissance rapide, permettant d'obtenir des animaux de taille commercialisable après six mois d'élevage après la ponte,

- * un cycle biologique court, ce qui diminue les risques en élevage et permet un retour rapide sur l'investissement,

- * Une très faible mortalité lorsque les conditions favorables sont réunies et maintenues pendant toute la durée de l'élevage,

- * une possibilité de contrôle de la période de reproduction et , par conséquent, d'adapter le cycle de l'espèce aux conditions climatiques naturelles,

- * l'absence quasi-totale de cannibalisme ,

- * une saveur gustative fort appréciée des consommateurs.

La demande sur le marché mondial est en forte augmentation et on prévoit un développement du marché européen de 5 à 10 % au cours des prochaines années. La moitié de la consommation des crevettes tropicales (en grande partie des Pénéides) a lieu au Japon, aux Etats-Unis et en Europe. Introduite en France par le CNEXO en 1968, l'espèce *Penaeus japonicus* a fait l'objet d'un grand nombre de travaux de recherche, voire de projets d'élevage commerciaux depuis maintenant une quinzaine d'années, mais les premiers résultats vraiment intéressants n'ont été obtenus qu'à partir de 1981, en particulier dans le Languedoc-Roussillon. La production française de crevettes Pénéides d'élevage a atteint 24 tonnes en 1989 * , alors qu'elle était de 12 tonnes en 1986 (QUINCY, 1987). Cependant, la somme de cette production et de la production par pêche est nettement inférieure à la demande du marché. La France importe annuellement 20 tonnes de crevettes pour une valeur d'environ 125 millions de dollars (QUINCY, 1987) . De plus, comme dans beaucoup d'autres pays, la consommation des crevettes en France augmente de façon régulière depuis plusieurs années. Cependant , en dehors du Japon qui procède à une aquaculture sophistiquée (élevage en culture intensive avec apport d'aliments composés),

* Réunion des producteurs de Pénéides. Bilan national crevettes Pénéides. Nantes, 15 - 16 Février 1990.

Avant-Propos

Avant d'aborder l'exposé de ce travail de recherche, je tiens à exprimer ici toute ma reconnaissance à ceux qui en ont permis la réalisation, et en particulier à :

- Monsieur le Professeur J.P. TRILLES qui m'a accueillie comme jeune chercheur dans son laboratoire. Je lui témoigne une profonde gratitude pour la disponibilité qu'il a constamment montrée à mon égard;

- Madame et Messieurs les Docteurs M. CHARMANTIER-DAURES, P. THUET, G. CHARMANTIER qui m'ont guidé depuis le début de mes recherches. Le grand intérêt qu'ils ont manifesté pour mon travail, et leur bienveillante attention m'ont énormément touchée;

- Mademoiselle G. PAYEN, Directeur de Recherches CNRS à l'Université PIERRE et MARIE-CURIE de Paris VI, Messieurs A. RAIBAUT, et L. THALER, Professeurs à l'Université des Sciences et Techniques de Montpellier, Monsieur J.P. TRUCHOT, Professeur à l'Université de Bordeaux, qui m'ont fait le très grand honneur de juger ce travail et de participer à ce jury;

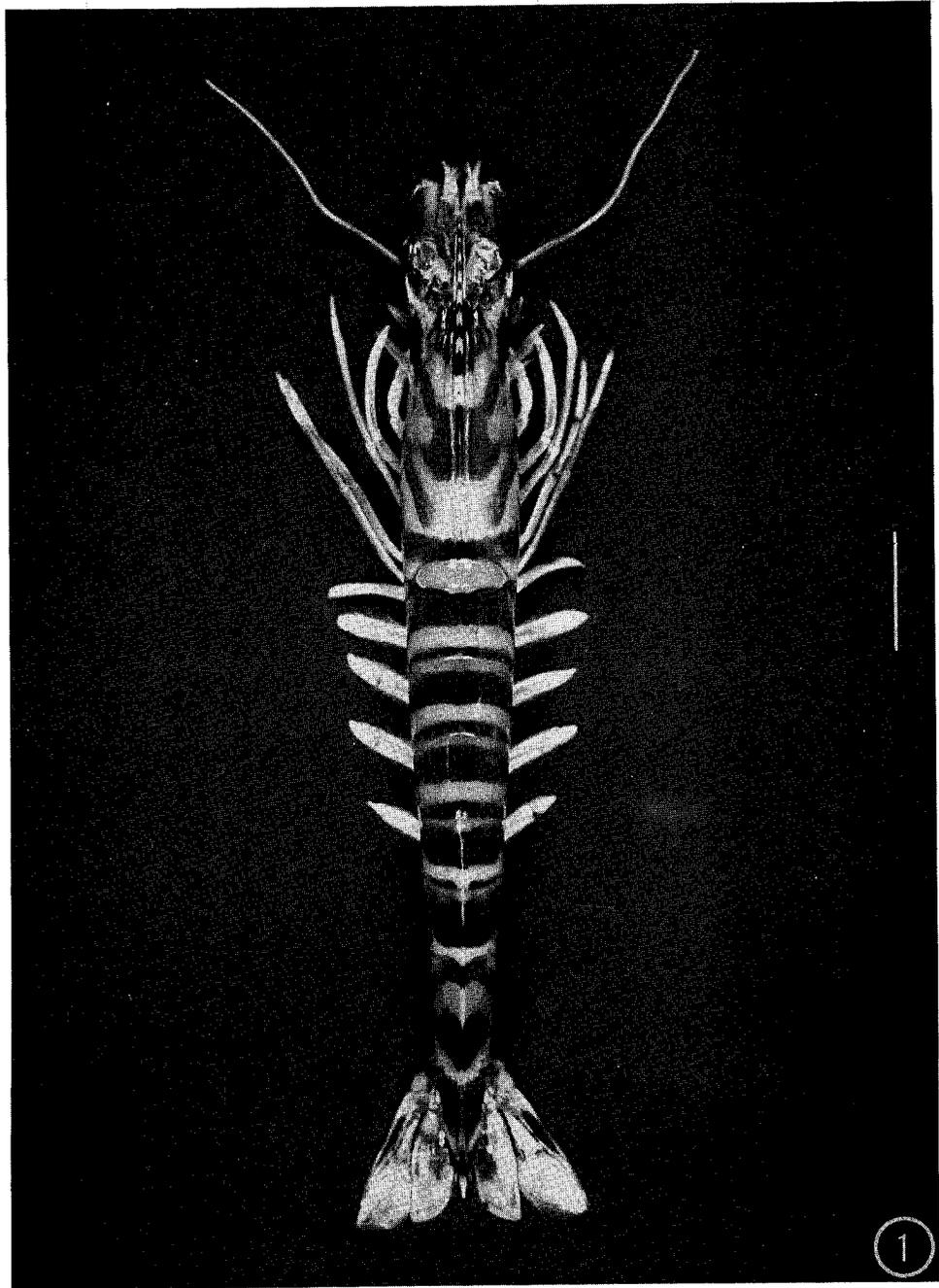
- Messieurs J.P. SELZER, A. ROSSI, J.F. CESARI, L. DATAS pour l'aide technique qu'ils m'ont apportée en microscopie électronique. Je garderai toujours en mémoire leur grande sympathie;

- Mesdames M.A. GARCIA, E. GROUSSET pour l'aide efficace qu'elles m'ont apportée, à Monsieur A. BRUNO pour sa contribution permanente aux travaux de photographie, sa grande patience et son extrême gentillesse. Je lui suis profondément reconnaissante ;

- Monsieur C. BRESSAC pour les nombreux conseils qu'il m'a prodigués;

- Enfin, je n'oublierai pas de remercier Madame G. NEGRE et Messieurs R. CASTILLO, B. ROMESTAND pour l'extrême sympathie qu'ils m'ont toujours témoignée.

La partie appliquée de ce travail a bénéficié d'un soutien financier de l'IFREMER-France / aquaculture.



nombre de pays, malgré les surfaces importantes utilisées ont des rendements à l'hectare faibles, peut-être attribuables à l'utilisation d'une filière de grossissement basée sur la production naturelle du milieu. Aussi, de nombreux pays font-ils un effort de recherche important dans le domaine de l'élevage des Pénéides (Japon, France, Etats-Unis, Philippines, Italie). De ce fait, les élevages sont de plus en plus contrôlés et répondront de plus en plus à l'augmentation de la demande, palliant ainsi dans une certaine mesure à la stagnation des prises de pêche.

3 - L'aquaculture nouvelle envisage des élevages à grande échelle en utilisant des sites naturels tels que lagunes, étangs ... ; cela suppose donc avant tout peuplement de ces sites des essais d'ensemencement et donc des études écophysiologiques préalables.

Parmi les problèmes d'élevage existe celui de la salinité, et de ses possibles variations. En éclosion, les jeunes stades peuvent être soumis à des changements de salinité, très généralement à des diminutions plus ou moins importantes de celle-ci. Dans les milieux lagunaires ou dans les bassins d'élevage, les stades plus avancés sont soumis aux variations des conditions météorologiques affectant essentiellement la température et la salinité du milieu. Dans les deux cas, deux types de questions peuvent être posés. Quelle est la salinité tolérable par les animaux ? Cette salinité est-elle la même pour tous les stades de développement et varie-t-elle avec la température ? Aussi cette étude a-t-elle pour but appliqué de préciser les salinités tolérables par les différents stades de développement de *P. japonicus* depuis la ponte jusqu'aux stades P20 - P21 (20 à 21 jours après la métamorphose).

Notre étude est donc essentiellement fondamentale, avec une connotation appliquée évidente. Le plan du texte présenté ci-après est le suivant :

- Chapitre I : biologie de l'espèce, en insistant sur la succession des stades de développement, et le déroulement de la métamorphose.

- Chapitre II : aperçu sur l'élevage des Pénéides en mentionnant les avantages et les inconvénients que présente chacune des techniques.

- Chapitre III: techniques expérimentales utilisées pour cette étude.
- Chapitre IV: ontogénèse des structures osmorégulatrices. Les études structurales et ultrastructurales nous ont permis de les localiser et de suivre leur évolution.
- Chapitre V: étude de la tolérance à la salinité et des capacités osmorégulatrices.
- Chapitre VI: étude des activités enzymatiques de l'ATPase Na^+ - K^+ et de l'anhydrase carbonique chez les différents stades.

A la fin de chaque chapitre, les principaux résultats sont regroupés dans un bref résumé. Dans le dernier chapitre (discussion et conclusion générales), l'ensemble des résultats sera résumé et discuté afin, en particulier, d'en établir une synthèse.

CHAPITRE I

PENAEUS JAPONICUS

1-1 POSITION SYSTEMATIQUE

La position systématique de la crevette impériale *Penaeus japonicus* (Bate, 1888), parfois improprement dénommée "Gambas" est la suivante :

Embranchement	: Arthropodes
Classe	: Crustacés
Sous classe	: Malacostracés
Super ordre	: Eucarides
Ordre	: Décapodes
Sous ordre	: Natantia
Famille	: Penaeidae
Sous famille	: Penaeidae
Genre	: <i>Penaeus</i> (Fabricius, 1789)
Espèce	: <i>japonicus</i> (Bate, 1888)

1-2 MORPHOLOGIE EXTERNE (Fig 1 et 2)

On peut tout d'abord noter les caractères Penaeidiens de cette crevette.

- * le corps est comprimé latéralement et possède un rostre bien développé,
- * les faces latérales des segments abdominaux sont lisses ,
- * les trois premières paires de pattes thoraciques (péréiopodes) sont terminées par des pinces ,
- * la troisième paire de pattes n'est ni plus longue, ni plus forte que les deux précédentes,
- * les deux dernières paires de péréiopodes sont terminées par des griffes,
- * la chambre incubatrice est absente.

Les critères taxonomiques spécifiques permettant de définir l'espèce *Penaeus japonicus* ont fait l'objet d'assez nombreuses études. Ils portent essentiellement sur la carapace (KUBO, 1949; LIAO et CHEN, 1972), le telson (YÜ, 1936), les organes copulateurs (TIRMIZI, 1958, 1965; LIAO et CHEN, 1969, 1972) et l'appendix masculina (YOKOYA, 1941).

PLANCHE I

Fig 1 : *Penaeus japonicus* adulte. Vue dorsale

Echelle : Le segment correspond à 20 mm

dans certains étangs languedociens ou, ce qui est moins probable, du fait de migrations depuis la Méditerranée orientale, mais encore faudrait-il être certain qu'il ne s'agit pas de spécimens de *Penaeus kerathurus*.

L'aire de répartition s'étend également vers le golfe d'Aden, l'est et le sud de l'Afrique, Madagascar (HILGENDORF, 1878; ORTMAN, 1890; STEBBING, 1910; CROSNIER, 1965), le golfe d'Arabie, le nord-est australien et les îles Fidji (ALCOCK, 1906; DALL, 1957).

1-3-2 Répartition bathymétrique

L'étude écologique de *P. japonicus* réalisée par YATSUYANAGI et MAEKAWA, (1955), et reprise par YASUDA (1958) permet de résumer en un tableau (1) l'ensemble des migrations et des déplacements de cette espèce.

Les profondeurs maxima atteintes par les adultes peuvent être supérieures à celles indiquées sur le tableau

Tableau 1 : Répartition bathymétrique de *Penaeus japonicus*

Stade	Taille Longueur de la carapace en mm	Déplacements et migrations	Lieu
Nauplius Zoé Mysis	< 10	Après ponte au large, dispersion et début de la vie pélagique	Vie pélagique d'abord près du fond puis à des niveaux variés.
Jeunes post-larves	< 10	Migration vers la côte	Niveaux divers se rapprochant fond. Fin de la vie pélagique.
Post-larves	10 - 25	Vie sédentaire près des rivages, estuaires, étangs ...	Plage (zone intertidale)
Juveniles	25 - 35	Début de migration vers des eaux un peu plus profondes	Eaux peu profondes (inférieures 10 m, généralement à l'intérieur baies)
Adultes	35 - 70	Migration vers le large et dispersion en mer	Large (10 à 30 m de profondeur)

1-3-3 Déterminisme des changements de répartition

Les facteurs qui déterminent ces changements de répartition sont encore très peu connus. Pour YATSUYANAGI et MAEKAWA (1955), la migration des larves vers les côtes serait attribuable à certains besoins alimentaires particuliers. Comme cela a déjà été montré chez d'autres Pénéides, YASUDA (1958) et ISHIOKA (1973) ont de leur côté émis l'hypothèse d'une influence probable d'autres facteurs tels que : la salinité, la température, la nature du substrat, les courants marins, etc ... sur ces migrations, mais jusqu'à présent, à notre connaissance, aucune étude décisive n'a été effectuée à ce sujet, sur *Penaeus japonicus*.

1 - 4 BIOLOGIE

1-4-1 Reproduction

1-4-1-1 Sexualité

Penaeus japonicus est une espèce gonochorique. Les deux sexes sont faciles à distinguer grâce à la présence d'organes sexuels externes caractéristiques (thélycum et pétasma).

1-4-1-2 Maturation

Dans les eaux japonaises et coréennes, de très nombreux auteurs ont indiqué que la maturation sexuelle des mâles et des femelles commence au mois de mai ; les animaux ont alors un âge minimum de 8 mois. Cette reproduction estivale intéresse la région indo-pacifique; dans les régions intertropicales, la reproduction a lieu toute l'année.

Quelle que soit la région, des données précises manquent toutefois quant à la taille des animaux matures (à partir d'un minimum de 30 g environ, si l'on considère les essais de reproduction contrôlée).

Le degré de maturité sexuelle des femelles peut être évalué par l'observation directe de l'aspect de l'ovaire (LIAO et HUANG, 1972). Ce dernier est en effet visible au travers de la région dorsale céphalothoracique et abdominale, qui est généralement assez translucide et permet de distinguer les organes sous-jacents.

Au cours de la vitellogénèse, l'ovaire augmente considérablement de volume; très turgescent, il s'étend de plus en plus dans la région antérieure du céphalothorax. En même temps, il se charge d'une caroténoprotéine, et sa coloration passe d'un blanc presque

translucide à un jaune pâle ou à un orange pâle, puis à un vert foncé ou à un brun foncé lorsque les animaux deviennent matures.

1-4-1-3 Accouplement

Chez *Penaeus japonicus*, la copulation a été décrite par HUDINAGA (1942) : le mâle dépose son spermatophore à l'intérieur d'une dépendance de l'appareil génital de la femelle, le thélycum.

Cet accouplement a lieu la nuit entre un mâle en prémue, donc aux téguments très durs, et une femelle molle qui vient juste de muer. A partir d'une certaine taille, cet accouplement a lieu à chaque mue de la femelle, même si celle-ci est immature, et le spermatophore fixé dans le thélycum est rejeté à chaque mue avec la carapace.

1-4-1-4 Fécondation

La fécondation est externe; elle intervient quand la femelle rejette librement en mer ses oeufs et les spermatozoïdes contenus dans son réceptacle séminal (HUDINAGA, 1942).

Les oeufs sont expulsés par les pores génitaux situés à la base des péréiopodes de la troisième paire, tandis que les spermatozoïdes sortent par deux ouvertures minuscules situées à la base des péréiopodes IV de la femelle.

A une salinité de 29‰ et à 27°C, la formation de la membrane de fécondation s'opère en 14 mn (LIAO et HUANG, 1972).

1-4-1-5 Ponte

Les conditions et les caractéristiques de la ponte dans les conditions naturelles sont très mal connues. Jusqu'à présent, seule la pêche des femelles gravides sauvages a permis d'étudier en détail son déroulement (HUDINAGA, 1942). La ponte a lieu la nuit; les femelles nagent alors activement et les mouvements vigoureux des pléopodes permettent aux oeufs de ne pas s'agglutiner, ce qui favorise leur éclosion. L'émission des oeufs est brève (de 2 à 4 mn); ils s'entourent immédiatement d'une sorte de masse gélatineuse et, plus denses, tombent sur le fond. Les femelles semblent pouvoir pondre plusieurs fois au cours de leur vie, mais des données précises manquent à ce sujet.

Enfin, toujours d'après HUDINAGA (1942), la température idéale pour la ponte se situe entre 25 et 30° C.

Le cycle de développement a été décrit pour la première fois par HUDINAGA

(1942); il fut ensuite précisé par SHIGUENO (1975). Ceci permet à LAUBIER-BONICHON (1975, 1978) d'étudier l'action de certains facteurs physiques (température et photopériode) à des moments précis du cycle, notamment sur la ponte et la maturation sexuelle. Par l'intermédiaire de ces facteurs, il est devenu possible de programmer la période de ponte (voir chapitre II).

1-4-2 Les stades larvaires (Fig 4, 6 et tableau 2 du chapitre II)

Les observations de HUDINAGA (1942) ont permis de mettre en évidence l'existence de :

- 6 stades Nauplius (N 1 à N 6)
- 3 stades Zoé (Z 1 à Z 3)
- 3 stades Mysis (M 1 à M 3)

1-4-2-1 Stade Nauplius

Les Pénéides sont les seuls Décapodes à naître sous la forme d'une larve nauplius. Dans le milieu naturel, celle-ci éclot environ 13 h après la ponte, par une dizaine de mètres de fond.

Il existe 6 stades nauplius successifs et donc 6 mues pour parvenir au stade zoé. La distinction entre les différents stades nauplius est basée essentiellement sur le nombre et l'aspect des appendices.

Les 6 mues se réalisent en 36 - 37 h à 27 - 29° C. Au repos les nauplii adoptent une posture verticale. Ils se déplacent en zigzagant et en utilisant les anténnules (A1), les antennes (A2) et les mandibules (Md). Les nauplius sont pélagiques et l'énergie nécessaire à toutes leurs activités est puisée dans les réserves vitellines puisqu'ils ne semblent pas se nourrir.

1-4-2-2- Stade Zoé

La durée des 3 stades peut varier de 5 à 8 jours à 27 - 29° C. Au repos leur position est verticale, la tête dirigée vers le haut. Leur alimentation est à base de phytoplancton et les mandibules servent à la mastication.

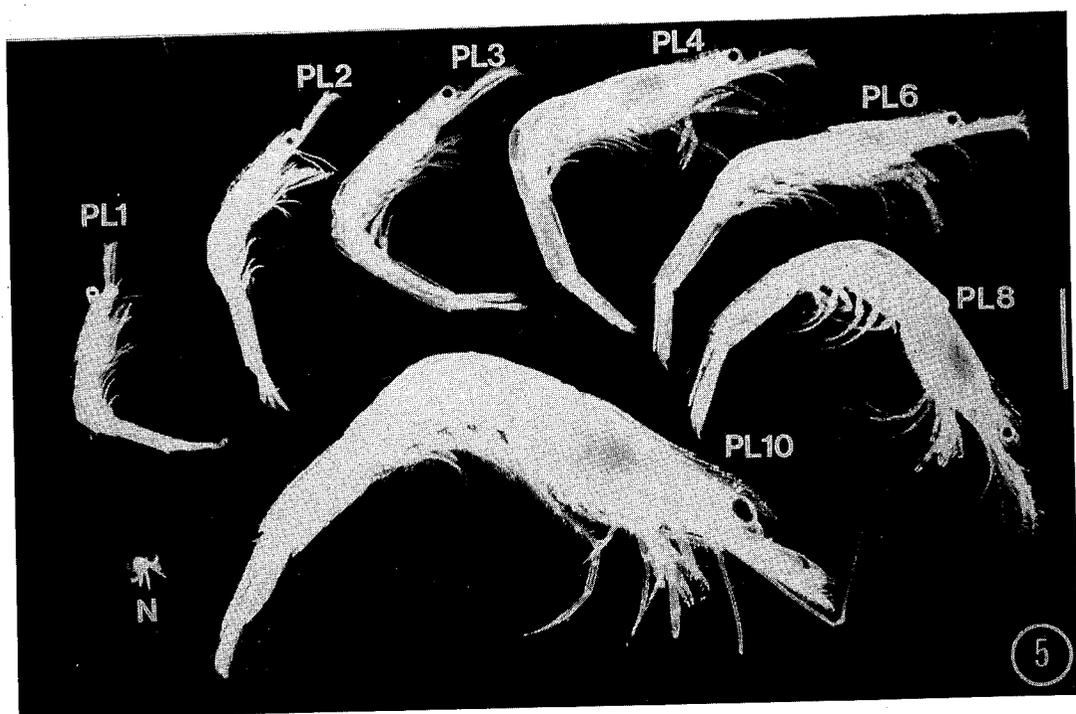
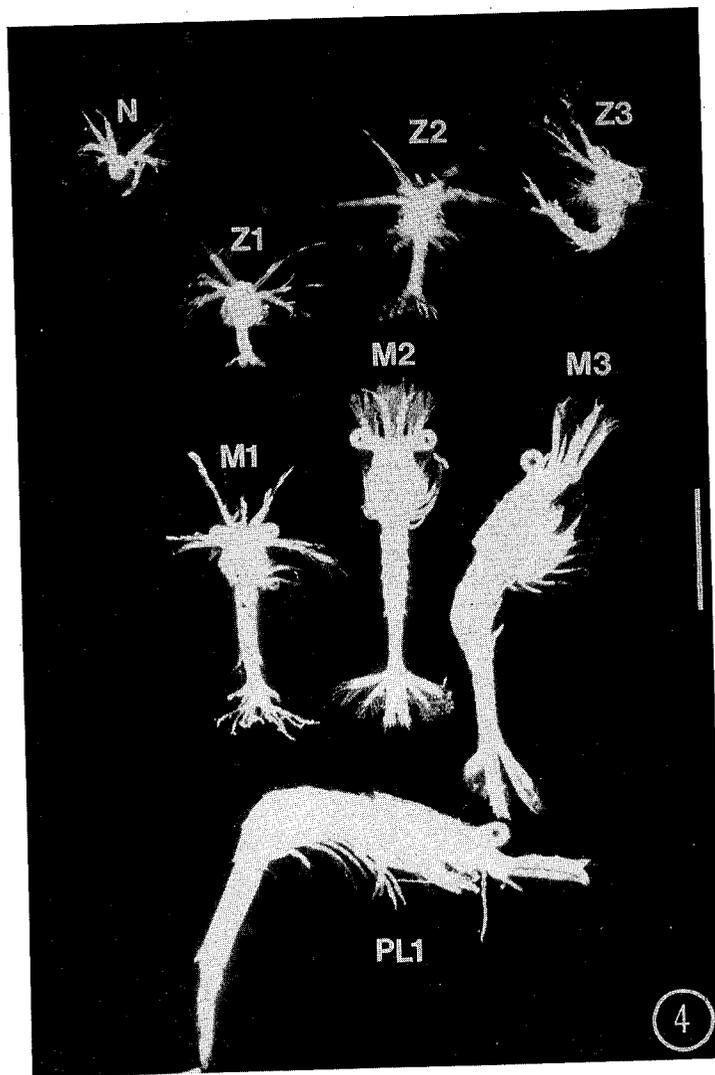
PLANCHE II

Stades larvaires et post-larvaires de *P. japonicus*
(photos G. CHARMANTIER)

Fig 4 : Stades larvaires : N : Nauplius ; Z 1 à Z 3 : Zoé 1 à Zoé 3 ; M 1 à M 3 :
Mysis 1 à Mysis 3 .

Fig 5 : Stades post-larvaires : PL1 à PL10

Echelle : Chaque segment correspond à 20 mm



1-4-2-3 Stade Mysis

La durée des 3 stades mysis est d'environ 5 jours à 27 - 29° C. Le déplacement est assuré par les péréiopodes, assistés par les 3 paires de maxillipèdes (Mx). Au repos, la mysis a aussi une position verticale, la tête par contre dirigée vers le bas. Les mouvements de déplacement sont brusques. Dans la nature, à la fin des stades mysis, les larves gagnent les côtes.

Le régime alimentaire devient carnivore.

1-4-3 Les stades post-larvaires (Fig 5, 6, et tableau 2 du chapitre III)

Le passage de Mysis 3 au stade PL1 (première post-larve) fait intervenir une mue de métamorphose qui est complétée progressivement au cours de mues successives. La post-larve acquiert la morphologie de l'adulte au bout d'une vingtaine de mues.

Dans la nature les jeunes post-larves, ayant regagné les côtes, ont une vie pélagique; 4 à 5 jours après la métamorphose, le comportement se modifie graduellement et au bout de 6 à 8 jours, elles deviennent fouisseuses sur des fonds sableux propres. Elles s'y enfouissent grâce à des mouvements des pléopodes, des péréiopodes et également avec l'aide des exopodites des antennes. La nage en pleine eau reste cependant utilisée, en particulier pour la recherche de la nourriture.

Dès cette étape est acquis le mode de vie des adultes, caractérisé par une faible mobilité le jour et une activité nocturne intense. Ces crevettes se nourrissent et muent durant la nuit.

Les post-larves âgées sont aussi appelées juvéniles. Ces dernières sont également benthiques. Pendant les premiers mois de leur existence, ils vivent en mer à proximité des plages et des étangs côtiers. Ensuite, lorsqu'ils atteignent une longueur totale de 8 à 12 cm, ils s'éloignent de la côte en nageant.

Ces animaux ont un régime alimentaire carnivore.

1-4-4 Le stade adulte (Fig 6)

Les individus sont adultes lorsque la différenciation des caractères sexuels secondaires (pétasma et thélycum) est réalisée. Ces derniers se mettent en place au bout de

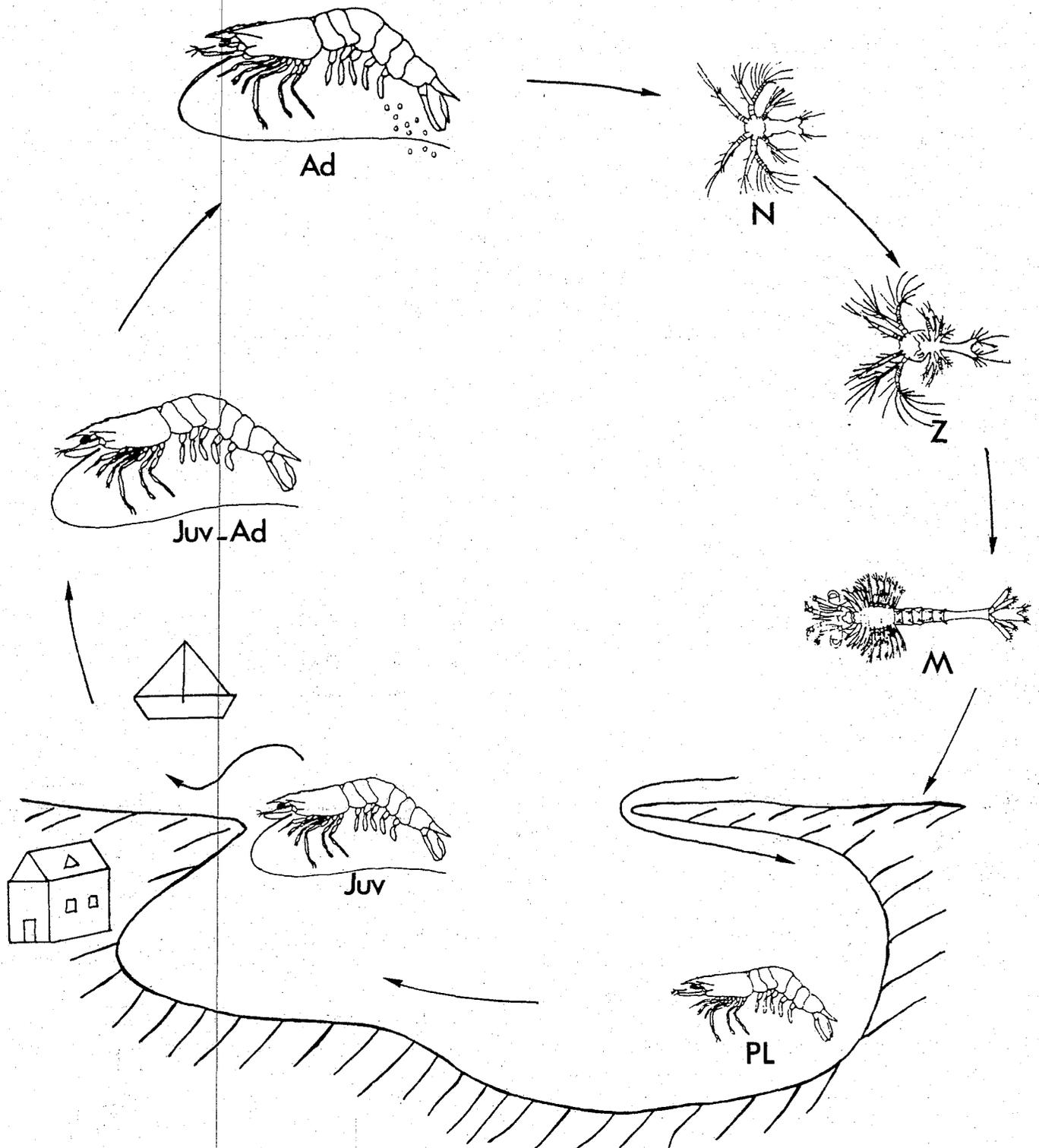


Fig 6: Cycle de développement et migrations de *Penaeus japonicus*.
 N : nauplius ; Z : zoé ; M : mysis ; PL : post-larve ; Juv : juvénile ; Ad :
 adulte. Les échelles de taille des différents stades ne sont pas
 respectées.

4 à 5 mois après la naissance. Cependant le mâle est légèrement plus précoce que la femelle. Les mâles atteignent une quinzaine de centimètres de longueur totale et les femelles une vingtaine.

Une fois les caractères sexuels apparus, la femelle a une croissance pondérale plus rapide que le mâle. La maturité sexuelle est atteinte au moins 8 mois après la naissance.

Les animaux vivent alors 2 à 3 ans, en muant tous les 1 à 2 mois selon l'âge.

Le mode de vie est similaire à celui des juvéniles. De même que la prise de nourriture, les mues, les déplacements, l'accouplement et la ponte ont lieu la nuit.

CHAPITRE II

ELEVAGE DE *PENAEUS JAPONICUS*

2-1 HISTORIQUE

L'élevage des crevettes Pénéides s'est développé de manière empirique en Indonésie et aux Philippines, il y a plusieurs siècles, dans des bassins côtiers aménagés et conquis sur les zones d'estuaires et de mangroves (les tambaks indonésiens).

Après que la reproduction ait eu lieu en mer, les post-larves devenues benthiques gagnent la côte où elles se concentrent au débouché des lagunes et des estuaires. On peut alors soit laisser pénétrer avec le flot les post-larves dans les bassins, soit les capturer avec des filets à maille fine pour accroître le recrutement naturel des tambaks. Après plusieurs mois d'élevage dans ces bassins, il suffit de remplacer les barrières à claire voie qui empêchent les animaux de regagner la mer par des filets fixes, pour capturer les crevettes parvenues à une taille convenable. On retrouve facilement l'origine de ces pratiques dans la pêche traditionnelle en lagunes telle qu'elle est réalisée de nos jours à l'ouverture des grandes lagunes de la Côte d'Ivoire dans le golfe de Guinée. Les indonésiens ont progressivement appris à gérer les plans d'eaux, à les enrichir en y apportant des déchets végétaux capables d'augmenter la production biologique. Ils ont également appris à répandre dans le fond des bassins du calcaire susceptible de diminuer l'acidité souvent élevée produite par la décomposition des débris végétaux et les apports d'eau douce continentale. Ces élevages primitifs se sont développés régulièrement à Java et surtout à Sulawesi en Indonésie, ainsi qu'aux Philippines, mais n'ont pratiquement pas évolué jusqu'à la seconde guerre mondiale.

Au Japon, en ce qui concerne *Penaeus japonicus*, la crevette la plus recherchée par les consommateurs nippons, des pratiques différentes se sont développées au début du vingtième siècle : des crevettes pêchées en mer, encore de trop petite taille pour être commercialisées étaient placées dans des viviers à fond de sable ; elles étaient nourries de poissons et de sous produits de la pêche jusqu'à ce qu'elles aient atteint une taille satisfaisante, après deux ou trois mues en captivité. Ces tentatives de grossissement étaient limitées à la saison chaude, et n'ont jamais pris un développement comparable aux élevages indonésiens et philippins.

Dans les deux cas, la principale limitation du développement de cette forme d'aquaculture réside dans la disponibilité de jeunes animaux prélevés dans le milieu naturel. En second lieu, viennent bien entendu les questions trophiques et de surface disponible pour la construction de bassins d'élevage.

C'est à partir de 1933, sous l'impulsion d'un chercheur japonais HUDINAGA, que débute l'histoire moderne des élevages de crevettes Pénéides. Il faudra près d'une trentaine d'années de recherches avant que ne soit produite en 1960 la première tonne de crevettes d'élevage (*P. japonicus*) au Japon. Depuis cette date, des essais ont été pratiqués sur une quarantaine d'espèces au moins, et diverses techniques ont été mises au point, qu'il s'agisse de la production des jeunes crevettes en éclosérie à partir de femelles prêtes à pondre, ou de grossissement jusqu'à la taille marchande. Elles ont permis un développement rapide de l'aquaculture mondiale des crevettes Pénéides qui dépasse nettement à l'heure actuelle les 100.000 tonnes, avec en particulier une progression récente particulièrement rapide dans les pays d'Amérique Centrale et Latine .

En France métropolitaine, les perspectives de l'aquaculture extensive restent encore incertaines, alors que des formes d'élevage intensif se développent dans les départements et territoires d'Outre-Mer et en particulier à Tahiti et en Nouvelle-Calédonie. En France , comme dans d'autres pays comme les Etats-Unis et le Japon, la demande reste à un niveau élevé. Les crevettes Pénéides sont très appréciées pour leurs caractéristiques gustatives, et les traitements et les préparations sont réduits à une conservation par congélation après étêtage.

2-2 ELEVAGE

2-2-1 Les méthodes modernes d'élevage

2-2-1-1 Obtention des pontes

Il existe actuellement trois méthodes distinctes pour obtenir les pontes des femelles, chacune tirant sa justification des caractéristiques écologiques du site, des aptitudes de l'espèce et de la disponibilité plus ou moins grande des animaux sauvages dans le milieu naturel. Ces méthodes sont inégalement développées au stade de la production.

La méthode la plus ancienne, élaborée au Japon entre 1935 et 1960 par HUDINAGA, a été mise au point pour *P. japonicus*, et largement diffusée depuis une quinzaine d'années à l'extérieur du Japon. Cette méthode repose fondamentalement sur la capture par la pêche commerciale de femelles parvenues naturellement à maturité, reconnaissables à leurs gonades développées et de couleur foncée, visibles à travers la carapace. Ces femelles, triées à bord des chalutiers, sont transportées aussi rapidement que possible jusqu'à l'éclosérie, où elles sont placées dans des bacs de ponte , et soumises à un léger choc

thermique. Dans de telles conditions, au cours de deux ou trois nuits suivant la capture, les femelles pondent dans les bassins d'où elles sont ensuite retirées. Cette technique implique donc la proximité d'une pêcherie commerciale. Après la ponte, les femelles survivantes sont commercialisées. Mise au point chez *P. japonicus*, cette méthode a été employée avec des résultats comparables chez d'autres espèces des régions intertropicales et tempérées chaudes.

Des méthodes permettant le transport des femelles gravides ont été mises au point, mais un délai de quelques heures au maximum doit être respecté entre la capture et la mise dans les bassins de ponte qui servent ensuite à l'élevage larvaire et post-larvaire. Schématiquement, la méthode consiste à soumettre les femelles matures, dans les jours qui précèdent immédiatement la ponte, à un stress thermique moyen. L'efficacité de la méthode dépend en grande partie du soin apporté au tri des femelles, et de la durée qui s'écoule entre la capture et la mise en bassin. Ceci explique pour quelle raison il n'a jamais été possible d'obtenir des pontes de *P. japonicus* à partir de femelles gravides transportées par voie aérienne du Japon en France, lors des premiers essais d'élevage de crevette japonaise pratiqués en France, il y a plus de 15 ans. La technique japonaise est encore aujourd'hui la plus répandue en termes de production de post-larves.

Dans les régions où il est difficile ou impossible de s'approvisionner régulièrement en femelles mûres capturées par la pêche, deux techniques différentes ont été développées, l'une en région équatoriale, la seconde en pays tempéré. Seule la première a réellement débouché aujourd'hui au plan commercial, alors que la seconde méthode représente peut-être la perspective d'avenir la plus intéressante.

La première méthode mise au point depuis 1970 environ dans différentes régions et en particulier à Tahiti pour la France, consiste à maintenir en bassins extérieurs de grande surface des populations importantes de crevettes des deux sexes, parmi lesquelles il faut trier chaque soir, après capture, les femelles gravides par examen direct des ovaires. Ces animaux en voie de maturation ovarienne sont ensuite transférés dans des bacs de ponte et épédonculés. L'épédonculation (ablation unilatérale, ou rarement bilatérale des pédoncules oculaires) a pour but de lever l'inhibition du développement ovarien induite par une hormone inhibitrice accumulée dans la glande du sinus du pédoncule oculaire. Elle entraîne la reprise et l'achèvement accéléré de la maturation ovarienne et aboutit à la ponte. Cette technique a permis le développement des premiers élevages de dimension commerciale réalisés à Tahiti, puis en Nouvelle-Calédonie par le CNEXO (AQUACOP, 1983).

Enfin, l'étude en captivité de *P. japonicus* au cours des années 1975-1976 a permis de mettre au point une méthode de contrôle écophysiological de la maturation (LAUBIER-BONICHON, 1975,1978). Elle est basée sur la constatation selon laquelle, lorsque les conditions de température atteignent une valeur suffisante de l'ordre de 20°C, l'initiation de la maturation est placée sous le contrôle de la photopériode chez des *P. japonicus* originaires du Japon, c'est-à-dire déjà soumis dans les conditions naturelles à une variation annuelle importante de la photopériode. Les premiers signes de maturation des gonades apparaissent à partir d'un éclaircissement de 12 h par jour, pour des animaux exposés auparavant à des jours courts de 9 à 10 h. Les pontes deviennent régulières et fréquentes pour des valeurs de 16 h d'éclaircissement journalier, avec une température de l'ordre de 24°C.

Un fait remarquable confirme l'importance de la photopériode dans le contrôle de la maturation sexuelle : il est possible d'obtenir toute l'année des pontes chez des animaux qui, normalement ne se reproduisent que pendant quelques mois d'été, voire d'inverser la saison de reproduction. Cette technique a été mise au point progressivement; elle a été employée avec une efficacité satisfaisante en France métropolitaine à l'échelle de la production pilote, dans les installations du CNEOX à Palavas -les-Flots, pour *P. japonicus* et *P. kerathurus*. L'un des intérêts fondamentaux du procédé réside dans la possibilité de programmer le période de ponte, pour de petites populations de femelles captives, de l'ordre de quelques dizaines d'individus. D'un point de vue biologique, il est intéressant de souligner que cette technique, qui fait appel au seul contrôle écophysiological de la maturation sexuelle permet d'obtenir fréquemment des taux d'éclosion de 100 %, ce n'est jamais le cas avec les techniques stressantes quelle que soit la nature du stress utilisé. D'un point de vue plus général, seule une méthode écophysiological permet d'étudier de manière rigoureuse l'évolution des caractéristiques génétiques au cours de plusieurs générations. De tels travaux ont été entrepris chez *P. japonicus* (LAUBIER *et al*, 1984) et ont montré une très faible variabilité génétique au cours des générations captives successives.

2-2-1-2 Elevage larvaire

Deux méthodes différentes sont utilisées avec succès depuis une quinzaine d'années pour les élevages larvaires de crevettes Pénéides.

La première et la plus ancienne de ces deux techniques a été mise au point par HUDINAGA et KITAKA (1967) au Japon dans le cas de *P. japonicus*. C'est la méthode dite de l'élevage en eau verte. Elle est relativement peu coûteuse et convient particulièrement bien aux productions de masse pratiquées par les japonais en vue

d'accroître les populations sauvages par déversement de jeunes femelles en mer. On utilise des bassins en ciment, qui peuvent être vidés totalement par un orifice inférieur, de façon à récolter les animaux en fin d'élevage. Ils sont protégés des intempéries par une construction légère équipée de parois translucides qui atténuent l'éclairage naturel. De l'eau de mer contenant des algues planctoniques et du zooplancton est introduite dans le bassin. Elle est progressivement portée à la température de 28° C par un système de canalisation dans lesquelles circule de l'eau douce chaude, et l'ensemble est maintenu homogène par une forte aération en plusieurs points du fond du bassin. Les femelles prêtes à pondre sont introduites dans le bassin au moment où le phytoplancton commence à se développer, ce qui peut être facilement suivi par le changement de couleur de l'eau.

Dès que les femelles ont pondu, on augmente progressivement l'intensité de la production phytoplanctonique en ajoutant des fertilisants minéraux à la dose convenable. Dans ces conditions de température, d'éclairage et de brassage de l'eau par aération, on obtient une floraison intense de diatomées qui donne à l'eau du bassin une coloration brune. Le phytoplancton servira de nourriture aux zoés à partir du 3ème jour suivant les premières pontes, et permettra en outre le développement, à partir des animaux introduits au moment du remplissage du bassin des populations zooplanctoniques dont les mysis de crevettes puis les post-larves se nourriront tour à tour pendant les premiers jours de leur vie. Cependant, il est nécessaire d'assurer un complément trophique sous la forme de nauplii et de stades juvéniles d'Artémies.

Cette technique exige peu de main d'oeuvre, mais n'est pas parfaitement fiable, le développement du phytoplancton stimulé par les apports de nutriments et celui du zooplancton ne se faisant pas toujours avec la vitesse désirée. Elle impose également de disposer simultanément d'un nombre relativement élevé de femelles gravides. La technique japonaise est par contre très intéressante dès lors qu'il s'agit de produire, au cours d'une même saison de reproduction de 2 à 3 mois seulement, les centaines de millions de post-larves de *P. japonicus* requises pour subvenir aux besoins du vaste programme de déversement de jeunes crevettes en Mer Intérieure du Japon, entrepris depuis une vingtaine d'années.

Une seconde technique est connue sous le nom de technique d'élevage en eau claire. Le principe en est simple : les algues planctoniques et les animaux planctoniques qui serviront de proies aux mysis et aux post-larves sont produits dans des installations entièrement distinctes du bassin d'élevage des crevettes. Cette technique nécessite un entretien journalier des bacs plus important, mais elle permet d'obtenir des densités plus

élevées en même temps qu'un taux de survie reproductible et généralement supérieur à celui de la méthode en eaux vertes . Une production régulière de dizaines de millions de post-larves peut être ainsi assurée chaque mois. En contrepartie, il est pratiquement impossible de fournir aux larves en élevage la même variété de types d'algues planctoniques et d'animaux proies que dans la technique japonaise. Il peut alors se poser des problèmes d'adaptation de la nourriture aux besoins des larves.

En France, la technique d'élevage en eau claire a été développée à Tahiti par le Centre Océanologique du Pacifique du CNEXO (AQUACOP, 1983) , puis en métropole dans les installations de la station de Palavas-les-Flots du CNEXO, puis de l'IFREMER.

2-2-1-3 Prégrossissement

La technique japonaise d'élevage larvaire permet d'aller directement jusqu'à l'obtention des post-larves âgées d'une vingtaine de jours (P 20, soit le stade post-larvaire 12 à 15 jours selon la température) : le fond plat des grands bassins d'élevage et la densité beaucoup plus faible des post-larves qui ne dépasse guère 10 individus par litre d'eau permettent en effet de poursuivre l'élevage durant un mois et demi environ, à partir de la ponte. Par contre, la méthode en eau claire doit être suivie d'une phase de prégrossissement opérée dans un bac différent du bac d'élevage larvaire. En effet, la densité des post-larves qui peut atteindre 60 à 80 individus par litre d'eau est trop élevée à partir du moment où, quittant la vie en pleine eau, elles colonisent le fond du bac d'élevage où elles mènent la plus grande partie de leur vie à partir du 4ème à 5ème jour après la métamorphose.

Le prégrossissement présente de nombreux avantages en facilitant, lors des transports d'un bac à un autre, puis vers les bassins d'élevage définitif la manipulation des jeunes crevettes qui sont devenues beaucoup plus résistantes que les premières post-larves. Etant donné les volumes d'eau relativement faibles, il est encore possible de chauffer légèrement les bassins de prégrossissement, de manière à obtenir une croissance initiale rapide. Des précautions doivent cependant être prises pour éviter l'apparition et la prolifération rapide d'infections telles que les mycoses branchiales à *Fusarium*.

2-2-1-4 Prégrossissement et acclimatation au milieu naturel

Bien qu'il ne s'agisse pas à proprement parler d'une technique de prégrossissement, il faut signaler l'importance prise, dans le vaste programme de repeuplement en *P. japonicus* de la Mer Intérieure du Japon, par la phase d'acclimatation

au milieu naturel. Les jeunes post-larves (P 20) issues des écloséries ne peuvent être directement transférées en mer ouverte, comme l'avaient cru au départ (1964, 1970 environ) les japonais. Il est indispensable de leur permettre de retrouver en particulier le comportement d'enfouissement et de recherche de la nourriture à la surface et dans le sédiment ; ceci doit être réalisé dans des conditions aussi sûres que possible vis à vis des agressions des prédateurs naturels.

Une première méthode d'acclimatation a été imaginée dès 1970 : les jeunes crevettes sont déversées dans des enceintes créées dans le milieu naturel ; elles ne sont ouvertes qu'un mois et demi après, lorsque les animaux ont largement dépassé le poids individuel de 1 g. Dès 1974, une telle technique a d'ailleurs également été utilisée en France de manière expérimentale dans un étang du Roussillon ; elle a été reprise à plus grande échelle dans les étangs de la région languedocienne où se pratique depuis quelques années une aquaculture extensive de crevettes japonaises (LUCET, 1984).

Au Japon, cette technique qui s'est avérée relativement coûteuse à mettre en place, et doit faire l'objet d'une surveillance quotidienne pendant la période de prégrossissement (risque d'abordage par des petites embarcations, accumulation d'algues, pénétration de prédateurs, etc ...) a été remplacée par un véritable aménagement de certaines plages : une série de bassins de faible profondeur sont disposés en gradins étagés jusqu'au niveau de la mer. Ils sont alimentés par pompage en mer, la filtration de l'eau avant son écoulement dans le bassin le plus élevé permettant de prévenir toute intrusion de prédateurs naturels. Les jeunes crevettes libérées dans la partie la plus haute du système gagnent progressivement la mer.

Cette méthode permet de traiter en continu des nombres très importants d'animaux. Elle semble donner de bons résultats et paraît plus économique que la technique des enceintes.

2-2-1-5- Grossissement

Selon les espèces de Pénéides considérées, il existe de nombreuses variantes dans les techniques de grossissement utilisées. De manière schématique, et en prenant par exemple le cas le plus compliqué, c'est-à-dire celui des espèces qui exigent de pouvoir s'enfouir dans le sédiment pendant la journée, on peut distinguer deux techniques, l'une relativement ancienne, de type semi-intensif, la seconde, plus moderne, de type intensif et réclamant des investissements matériels beaucoup plus importants.

* Technique semi-intensive

La technique semi-intensive a été mise au point à partir des viviers traditionnels au Japon dès 1960 environ. Les enceintes de grossissement, souvent créées à partir d'anciens marais salants désaffectés, sont de grandes surfaces. Avant la période d'élevage, les bassins sont asséchés et le sol est labouré pour permettre l'oxydation complète des déchets organiques enfouis provenant de la précédente campagne.

La mise en eau a lieu en avril, et les post-larves sont transférées dans les bassins quelques jours plus tard. Elles mesurent alors 1,5 cm de longueur, pèsent 25 mg. Le bassin de grossissement peut également être relié par un système de vannes à un autre situé en amont dans lequel se fait le pré-grossissement des post-larves provenant directement des écloseries. Durant cette phase, les animaux sont nourris avec des aliments naturels. Les eaux brunes de ces bassins de pré-grossissement, entretenues par des apports de fertilisants minéraux fournissent en outre une nourriture complémentaire liée à la chaîne alimentaire qui s'y développe naturellement. Au bout d'un mois, les jeunes crevettes sont conduites dans le bassin de grossissement. La période de grossissement rapide commence à la mi-juin et les animaux les plus gros sont commercialisables dès le début du mois de novembre. Les pêches se poursuivent jusqu'en décembre, date à laquelle la production est interrompue à la suite de la baisse des températures qui ralentit considérablement la croissance de *P. japonicus* en dessous de 18° C.

Comme cela se pratique dans d'autres élevages aquatiques, les japonais commencent à tirer parti des eaux de refroidissement de certaines installations industrielles littorales, en particulier des centrales thermiques ou nucléaires de production d'électricité. Ils maintiennent ainsi au-delà de la saison, la température de l'eau des bassins de grossissement à des valeurs autorisant la poursuite de la croissance des crevettes. Dans ces conditions d'élevage, le poids individuel moyen peut atteindre 20g. La charge en fin d'élevage peut atteindre 300 à 500 g / m².

La nourriture distribuée est principalement composée d'aliments frais. D'autres sous-produits de la pêche peuvent être utilisés. Depuis une quinzaine d'années, on assiste au remplacement progressif de ces aliments frais, qui posent des problèmes de conditionnement et de conservation, dont les prix varient selon la période de l'année, et qui polluent le fond des bassins, par des aliments granulés mis au point à la suite notamment des travaux de KANAZAWA (1982).

Dans tous les cas, il existe un risque considérable de pollution organique du fond des

Le problème de l'alimentation représente aujourd'hui une véritable barrière au développement des élevages semi-intensifs des crevettes Pénéides. Ce n'est qu'en

2-2-2 Alimentation

Les charges atteintes peuvent être de $2 \text{ Kg} / \text{m}^2$ jusqu'à $2,5 \text{ Kg} / \text{m}^2$ en fin d'élevage et de 20 à 25 g pour les poids individuels. Néanmoins, compte-tenu des dépenses de pompage, ce type d'élevage restera fortement dépendant de l'évolution générale des prix de l'énergie électrique, qui peut à tout moment remettre en cause leur équilibre.

Pour des raisons climatiques, cette technique reste limitée au sud du Japon. L'élevage est totalement réalisé dans des bacs en béton, l'eau circule constamment à travers la couche de sédiment, de manière à prévenir tout risque de pollution par les déchets de nourriture et les mues de crevettes, tout en fournissant pendant le jour aux animaux enfouis la quantité d'oxygène dissous indispensable à leur métabolisme.

C'est encore au Japon, pour l'élevage de *P. japonicus*, qu'a été imaginée à partir de 1971 environ, la première technique d'aquaculture à haute densité des crevettes Pénéides. La nécessité de disposer d'un fond de sable d'une épaisseur d'une vingtaine de cm environ, permettant aux crevettes de s'enfouir totalement durant la journée, a conduit à un système relativement complexe et fortement consommateur d'énergie.

* Technique intensive

Au début de la période de commercialisation, lorsque les crevettes sont encore très actives durant la nuit, la pêche est effectuée avec des filets fixes, installés dans les bassins d'élevage. À la fin de la période, lorsque la baisse de la température réduit l'activité des animaux, on a recours à un petit chalut pour récupérer les crevettes.

basins, conduisant à la mort des crevettes en élevage. Un certain nombre de pratiques tendent à prévenir ces phénomènes d'autopollution. La nourriture est distribuée juste avant le coucher du soleil, afin de réduire au maximum les risques de fragmentation et de dilution dans l'eau (les crevettes japonaises ne se nourrissent qu'une fois la nuit tombée), et la distribution de la nourriture est faite dans des zones un peu plus profondes du bassin et bien localisées, d'où il est possible, le jour suivant, de retirer les restes de la nourriture non consommée durant la nuit précédente.

aquaculture extensive que cette question ne se pose pas, mais d'autres contraintes se manifestent alors, et en premier lieu la disponibilité de surfaces suffisantes de lagunes naturelles : même en zone tropicale comme au Brésil, ou dans les pays du sud-est asiatique dans lesquels cette forme d'élevage a vu le jour, l'aquaculture extensive ne dépasse guère quelques centaines de kilos à l'hectare.

A l'opposé, les élevages intensifs atteignent des rendements de 20 à 30 tonnes par hectare dans les grands bassins japonais, et les élevages semi-intensifs pratiqués au Japon ou en Amérique Centrale, atteignent des rendements de 2 à 3 tonnes/hectare. Ces élevages exigent l'emploi d'aliments adaptés aux besoins des crevettes Pénéides et produisent un minimum de déchets, conditions qui ne peuvent être réalisées qu'avec des aliments composés. Les données actuelles sur les besoins nutritionnels des Pénéides ne permettent pas encore d'apporter une solution rigoureuse à ce problème. De très nombreuses recherches ont été réalisées et sont encore partois en cours, en particulier au Japon avec le groupe KANAZAWA, aux Etats-Unis avec les recherches de ZEIN-ELDIN et en France avec les travaux de CECCALDI, CUZON et GUILLAUME notamment.

Au Japon, il existe depuis plusieurs années deux aliments commerciaux composés, l'un à base de farine de calmar et l'autre à base de farine de poisson blanc ; ils ont progressivement remplacé dans les élevages semi-intensifs les aliments frais et se sont bien entendus immédiatement imposés dans les élevages intensifs. Il existe également un aliment composé destiné aux mysis âgées et aux post-larves, qui semble pouvoir être substitué avec succès aux nauplii d'*Artemia*. Les premiers tests sont en cours en ce qui concerne les micro-particules destinées aux formes larvaires.

Aux Etats-Unis, il existe également des aliments composés pour le grossissement, fabriqués industriellement depuis plusieurs années ; des progrès restent cependant nécessaires. En France, les fabrications d'aliments composés approchent du stade industriel, en particulier dans le cas des élevages d'Outre-Mer.

2-3 LES PERSPECTIVES DE L'AQUACULTURE DES CREVETTES EN FRANCE

Dès 1968, la France s'est intéressée aux élevages de crevettes Pénéides. C'est sur les conseils de HUDINAGA, qui avait tenu à visiter le littoral français, que les premières tentatives d'élevage ont été réalisées à partir du savoir-faire japonais.

Les importations de femelles gravides de *P. japonicus* se sont soldées par des échecs et les premiers élevages ont été réalisés avec des post-larves importées du Japon. Une étape essentielle a été franchie en 1975, avec la découverte des possibilités de contrôle écophysiologique de la maturation et de la ponte sous des latitudes tempérées, où, l'espèce ne se reproduit normalement pas naturellement (LAUBIER-BONICHON, 1975). Au même moment, à Tahiti, sous une latitude équatoriale, la reproduction en captivité était obtenue chez plusieurs espèces (AQUACOP, 1975). Les deux approches ont ouvert de nouvelles possibilités en matière de production de larves, et, par conséquent de grossissement. Depuis cette époque, les essais de grossissement en différents sites ont permis d'aborder les problèmes de commercialisation et de marché, et de dégager les perspectives de développement de l'aquaculture de crevettes en France, en l'état actuel des techniques et des connaissances.

En France métropolitaine, les conditions économiques ne permettent pas actuellement à l'aquaculture de type intensif ou semi-intensif de se développer, compte tenu du prix de revient des post-larves produites en nombre trop réduit.

Depuis quelques années, des programmes d'aquaculture extensive de crevette japonaise ont été menés dans différents étangs du littoral languedocien. Ils ont montré que l'opération est globalement rentable dans les conditions du marché français, avec un taux de recapture de 12 % pour des poids individuels moyens supérieurs à 30 g ; certains individus femelles dépassant même 50 g au terme d'une saison d'été passée en étang (LUCET, 1984). Les résultats fort intéressants restent néanmoins limités dans leurs perspectives de développement, pour des raisons de surface disponible en zone non urbanisée et non polluée. On peut espérer une production maximale de l'ordre de 1000 à 1500 tonnes, soit le dixième de la consommation nationale. Par contre, il est certain qu'une production de cette importance aurait un effet extrêmement dynamique sur les activités régionales d'élevage marin. En outre, s'il se produisait, un tel développement entraînerait des gains de productivité fort importants au stade de l'éclosion, et par conséquent, une baisse du coût de la post-larve ouvrant de nouvelles perspectives pour l'aquaculture semi-intensive, sous réserve de progrès dans la formulation des aliments composés.

Dans les DOM-TOM, les conditions thermiques plus favorables permettent le développement d'une aquaculture semi-intensive et intensive, et cela est d'autant plus heureux que dans la majorité des cas, les surfaces disponibles près de la mer sont très réduites. Il existe actuellement des fermes expérimentales en Polynésie, des réalisations commerciales se développent rapidement en Nouvelle-Calédonie, où les conditions

Aujourd'hui, en France, les premiers succès enregistrés doivent être confortés, et les priorités actuelles ne sont guère contestables. De la même manière, face à un grand nombre

croissance rapide.

Enfin, à plus long terme, on peut penser à l'intérêt qu'il y aurait à obtenir à volonté des lignées femelles : en effet, la vitesse de croissance des femelles est à peu près deux fois plus élevée que celle des mâles (croissance pondérale), et il serait fort intéressant pour l'éleveur, comme en salomoniculture d'eau douce où l'on obtient des lignées femelles par gynogénèse, de pouvoir disposer de populations exclusivement composées de femelles, à

jusqu'à présent.

Au-delà de ces perspectives spécifiques du développement en France, les progrès de l'aquaculture des crevettes Pénéides passent très vraisemblablement par une domestication plus poussée, comportant au plan scientifique une approche physiologique et génétique. En effet, bien que l'on sache, au niveau du laboratoire, maintenir jusqu'à 5 générations successives en filiation directe, rien n'a encore été tenté en matière de domestication à l'échelle du terrain ; il n'existe à l'heure actuelle aucun programme d'amélioration des caractéristiques intéressantes pour l'élevage. De la même manière, alors que les techniques de fécondation artificielle sont maîtrisées, aucun programme d'hybridation n'a été entrepris

synthétiques, satisfaisant l'ensemble des besoins des différentes espèces.

Parmi les principales difficultés qui devront être résolues à court terme, l'ensemble des processus liés à la production mérite une mention particulière, dans la mesure où il ne s'agit pas tant de progresser au plan technique que de réduire le coût de la post-larve: amélioration de la fiabilité du contrôle de la maturation ovarienne sur de petites populations de diverses espèces, fécondité des mâles, meilleure connaissance des conditions endocrines de déclenchement de la ponte, taux d'éclosion sur certaines espèces. Toutes ces questions doivent faire l'objet de nouvelles recherches si l'on veut améliorer de façon décisive le fonctionnement des écloseries actuelles. Un second aspect, souvent considéré comme plus important à court terme, concerne la mise au point d'aliments

d'élevage par an, avec une alternance d'espèces d'eau chaude et d'espèces d'eau tempérée. Dans ce dernier cas, les possibilités du marché local restent insuffisantes, et il faut délibérément s'orienter vers l'exportation d'une partie importante de la production. Ceci conduit à l'installation de moyens de conservation et de traitement des produits adaptés aux demandes des pays importateurs, qui sont principalement le Japon et les Etats-Unis.

d'espèces de Pénides et à la diversité de leurs caractéristiques, il est tout à fait nécessaire de continuer à consacrer beaucoup de temps et d'effort à comparer les performances de différentes espèces vis à vis de tel ou tel environnement. Il serait certainement intéressant pour l'avenir de chercher à mieux tirer parti de l'acquis déjà obtenu, qui fait de la France l'un des cinq ou six premiers pays au monde du point de vue des connaissances et des savoir-faire.

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE III

3-1 IDENTIFICATION DES STADES DE DEVELOPPEMENT

Les animaux provenant de la station IFREMER (Deva-Sud) de Palavas-les-Flots (Hérault) nous ont été fournis à partir du début du mois de Février 1987 et de la mi-mars 1988, et ceux provenant de la station aquacole de Balarnuc-les Bains à partir de la mi-mars 1989.

Les animaux sont élevés dans les stations aquacoles en eau de mer de salinité 36‰ à 25-27° C pour les larves, 23° C pour les post-larves et 18-20° C pour les adultes, et sont soumis à une photopériode 12 L / 12 D (AQUACOP, 1983 ; LAUBIER, 1986).

Après leur transport rapide au laboratoire, les différents stades larvaires et post-larvaires sont identifiés sous la loupe binoculaire. Les critères de reconnaissance de nature essentiellement morphologique sont nombreux et variables.

- Pour les stades larvaires, l'identification repose sur différents critères : comportement, forme du telson et nombre d'épines présentes à son niveau, temps d'apparition des yeux composés et des uropodes, nombre d'épines abdominales (pour plus de détails voir tableau 2).

- Pour les stades post-larvaires, trois critères sont utilisés : le nombre d'épines rostrales, d'articles composant les antennes et d'épines du telson (voir tableau 2, et fig. 8 à 13)

Les post-larves sont désignées soit par le nombre de jours écoulés après la métamorphose PY (Y : nombre de jours après la métamorphose), soit par leur stade de développement : PLX (Xième stade post-larvaire). Il n'y a que le premier jour après la métamorphose où PY = PLX, c'est-à-dire P1 = PL1 alors qu'au dixième jour après la métamorphose, à 25° C, P10 correspond dans 90% des cas à PL5. Il est tout de même important, après la métamorphose, de considérer les animaux selon le stade post-larvaire (dénomination PL), alors que la dénomination P, comme cela est utilisé couramment peut prêter à confusion, puisque des animaux ayant le même âge peuvent se trouver à des stades de développement différents.

TABLEAU 2 : Résumé des principales caractéristiques des stades successifs de développement de *Penaeus japonicus* de la ponte aux post-larves II (PLII)

STADE	Nauplius 1 à 6	ZOE			MYSIS			POST-LARVES														
		1	2	3	1	2	3	PL1 (P1)	PL2 (≈P3)	PL3 (≈P4)												
Durée à 25°C	≈ 36 à 48 h	≈ 3 jours			≈ 4 jours			≈ 2 jours	≈ 1 - 2 jours	≈ 2 jours												
Longueur mm	0.3 - 0.7	0.9 - 1.3	1.8 - 2.1	2.1 - 2.6	2.6 - 3.1	3 - 3.6	3.8 - 4.5	4.8 - 5	5.2 - 5.7	5.8 - 6.4												
<ul style="list-style-type: none"> - 3 paires d'appendices (A1, A2, Md) - Déplacements saccadés par battements de ces appendices - avec période de repos 		<ul style="list-style-type: none"> - Nouveaux appendices : M x 1, M x 2, M x p1, M x p2 puis pérétopodes - Abdomen bien segmenté - Déplacements rythmiques surtout par A1, A2 			<ul style="list-style-type: none"> - Pérétopodes bien développés avec exopodites - Posture "tête en bas", nage souvent en arrière, non rythmée, assurée par les <u>exopodites</u> des pérétopodes 			<ul style="list-style-type: none"> - Disparition des exopodites des pérétopodes - Pinces terminales sur les pérétopodes 1 à 3 - Nage en avant ou en arrière assurée par les <u>pléopodes</u> 														
<ul style="list-style-type: none"> - Pas d'épines sur céphalothorax - Pas de pérétopodes 		<ul style="list-style-type: none"> - Apparition des 2 yeux - 3 épines antérieures sur céphalothorax - Rudiments de pérétopodes 			<ul style="list-style-type: none"> - 5 épines dorsales importantes sur l'abdomen - Rudiments de pérétopodes bien visibles - Apparition des uropodes 			<ul style="list-style-type: none"> - Disparition de 2 épines dorsales abdominales (restent 3) - Apparition d'1 épine dorsale abdominale (restent 2) - Ebauches nettes de pléopodes 			<ul style="list-style-type: none"> - 2 dents sur rostre - Pléopodes biramés 			<ul style="list-style-type: none"> - 3 dents sur rostre - Antennule : endopodite : 3 articles - Antennule : exopodite : 2 articles - Telson : 8 + 8 épines 			<ul style="list-style-type: none"> - 4 dents sur rostre - Antennule : endopodite : 4 articles - Antennule : exopodite : 2 articles - Telson : 8 + 8 épines 			<ul style="list-style-type: none"> - 4 dents sur rostre - Antennule : endopodite : 4 articles - Antennule : exopodite : 3 articles - Telson : 8 + 8 épines - Disparition des 2 épines abdominales dorsales 		

POST - LARVES

PL4 (≈P6)	≈ 3 jours	6.4 - 6.9	- 5 dents - Antennule : 5 articles - Telson : 8 + 8 épines
PL5 (≈P10)	≈ 2 jours	6.6 - 7.5	- 6 dents - Antennule : 5 articles - Telson : 8 + 8 épines
PL6 (≈P11-P12)	≈ 2 jours	6.8 - 7.9	- 7 dents - Antennule : 5 articles - Telson : 8 + 8 épines
PL7 (≈P13-P14)	≈ 2 jours	7.2 - 8.3	- 7 dents - Antennule : 6 articles - Telson : 8 + 8 épines
PL8 (≈P15)	≈ 2 jours	8.4 - 10.4	- 7 dents - Antennule : 6 articles - Telson : 7 + 7 épines
PL9 (≈P17)	≈ 2 jours	8.6 - 11.1	- 8 dents - Antennule : 8 articles - Telson : 6 + 6 épines
PL10 (≈P19)	≈ 2 jours	9.4 - 12.3	- 8 dents - Antennule : 9 articles - Telson : 5 + 5 épines
PL11 (≈P21)	≈ 2 jours	10.4 - 13.4	- 9 dents - Antennule : 9 articles - Telson : 4 + 4 épines

A1 : antennule ; A2 : antenne ; Md : mandibule ; Mx1 : maxillule ; Mx2 : maxille ; Mx p : maxillipède
 Px : correspondance approximative en nombre de jours écoulés depuis la métamorphose .

PLANCHE III

50

Partie rostrale du céphalothorax de *P. japonicus*.
Identification des stades de développement par le nombre d'épines rostrales

Fig 7 : Stade larvaire Mysis 1 : pas d'épines rostrales

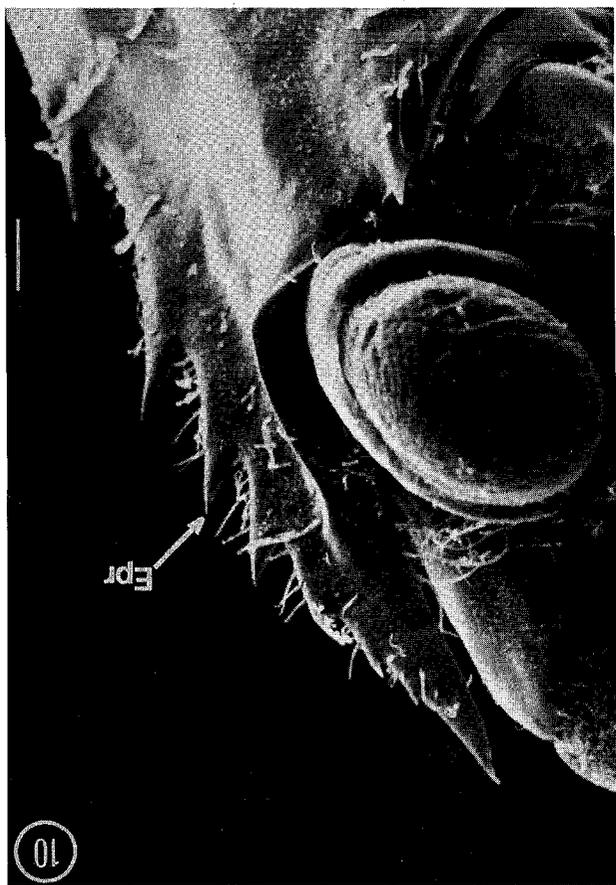
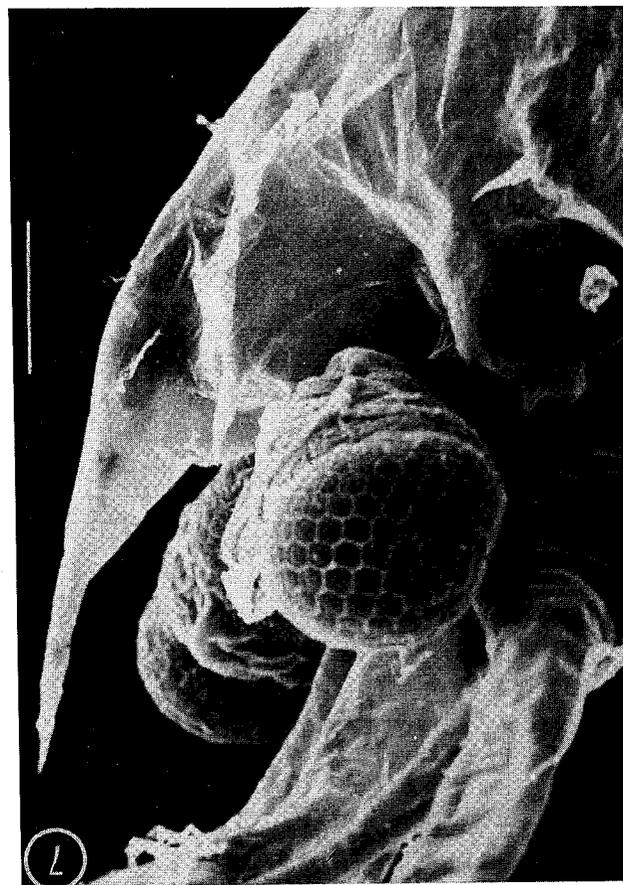
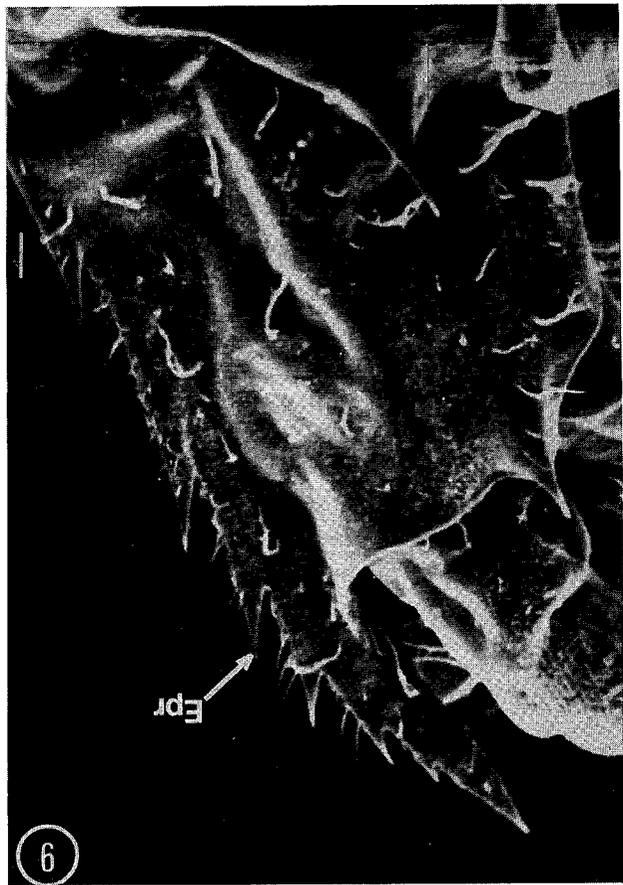
Fig 8 : Stade post-larvaire PL 4 : 5 épines rostrales

Fig 9 : Stade post-larvaire PL 5 : 6 épines rostrales

Fig 10 : Stade post-larvaire PL 6 : 7 épines rostrales

Abréviation : Epr : épine rostrale

Echelle : Chaque segment correspond à 50 µm



3-2 DETERMINATION DES STADES DU CYCLE DE MUE

Quand l'identification des stades de mue a été possible, seuls des animaux en intermue (stade C4) ont été utilisés pour les expérimentations. La détermination est basée sur l'observation microscopique du telson et des soies, selon la méthode classique de DRACH et TCHERNIGOVITZEFF (1967).

3-3 MICROSCOPIE

3-3-1 Microscopie photonique

Les échantillons, une fois fixés au liquide de Halmi durant 24 h, sont mis dans de l'alcool à 70°. La déshydratation est effectuée par passage dans différents bains d'alcool à 90° et 100°, de 10 mn chacun. L'inclusion est réalisée dans de la paraffine pure à 60° C après imprégnation au butanol, et la mise en bloc est faite dans des barres de Leuckart. Les coupes d'une épaisseur de 6 à 7 µm, réalisées au moyen d'un microtome à paraffine type Minot 1212, sont étalées et collées sur des lames à la gélatine. Après un passage à l'étuve pendant 3 jours à 60° C et leur déparaffinage, elles sont colorées. Plusieurs colorations ont été essayées, nous avons retenu le Trichrome de Masson (variante de Goldner) (MARTOJA et MARTOJA-PIERSON, 1967); c'est celle qui nous a donné les meilleurs résultats. Elle comprend :

- l'hématoxyline de Groat
- le mélange fuschine-ponceau
- de l'orange G molybdique
- du vert lumière

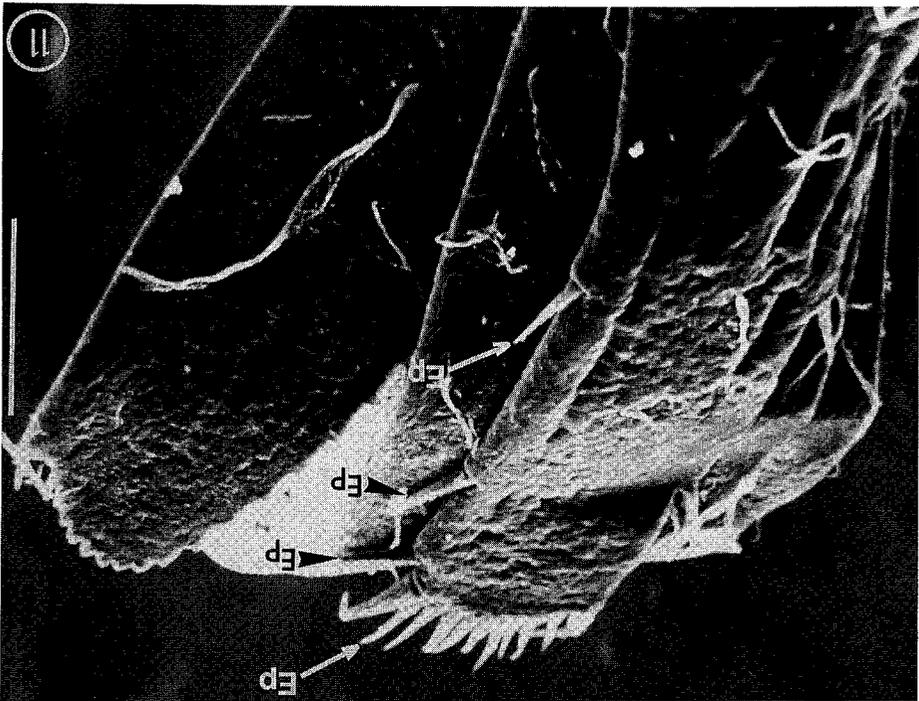
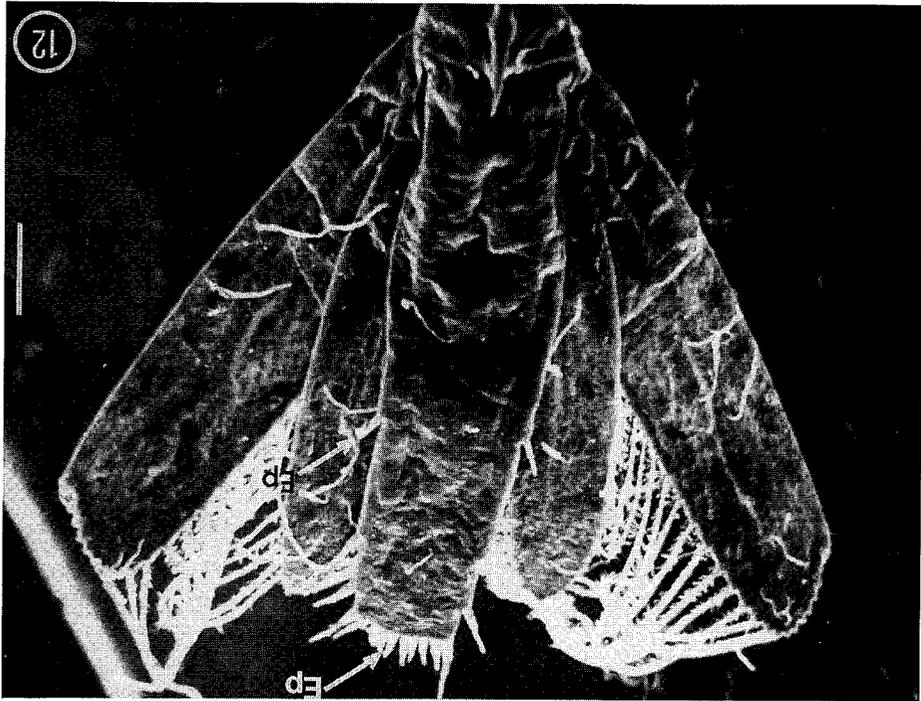
Les noyaux sont colorés en brun-noir, les nucléoles en rose, la teinte des cytoplasmes va du rouge vif au verdâtre, les hématies prennent une coloration jaune, les fibres collagène et les structures riches en mucopolysaccharides acides, telle que la cuticule, sont colorées en vert franc, les muscles en rouge.

Extrémité postérieure de post-larve de *P. japonicus*.
Identification du stade par le nombre d'épines portées par le telson.
Fig 11, 12 : Stade PL 1 : 2 x 8 épines sur le telson

Abréviation: Ep : épine

Echelle : Chaque segment correspond à 100 µm

PLANCHE IV



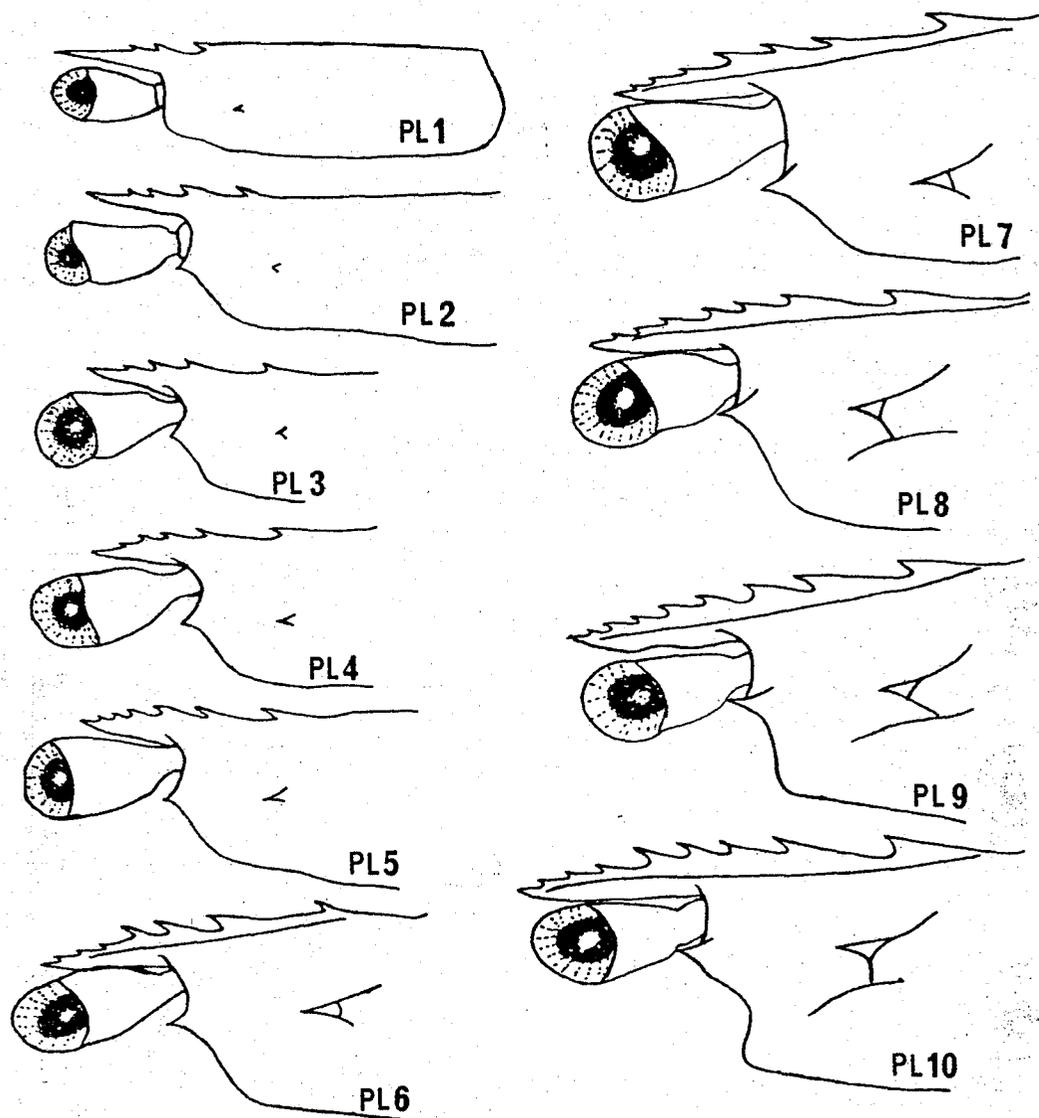


Fig 13 : Détermination des stades post-larvaires PL1 à PL10 de *Penaeus japonicus* par le nombre d'épines rostrales.
(d'après HUDINAGA, 1942)

3-3-2 Microscopie électronique à balayage

Les échantillons frais sont fixés pendant 24 h à 4° C au glutaraldéhyde à 25% dans du tampon cacodylate de sodium 0.1 M à pH 7.2.

Afin d'éviter les problèmes de transfert d'eau, l'osmolarité du fixateur est réajustée au préalable à celle du milieu intérieur des échantillons par addition de NaCl. L'osmolarité est contrôlée grâce à un osmomètre Roebing. Les échantillons sont ensuite rincés dans du tampon cacodylate de sodium pendant 24 h à 4° C (3 bains successifs durant 24 h) et déshydratés par passage dans des bains successifs d'alcool éthylique de concentration croissante (30°, 50°, 70°, 90°, 100°) pendant 10 mn. La déshydratation s'achève avec 2 bains d'alcool éthylique pur.

On procède ensuite au "point critique" au CO₂ afin d'éviter les tensions superficielles. Les échantillons sont alors collés sur des portoirs métalliques puis métallisés à l'or (couche de 20 à 30 nm) avant d'être observés au microscope électronique à balayage JEOL SM U3 sous des tensions d'accélération de 10 à 25 KV.

3-3-3 Microscopie électronique à transmission

Les échantillon, fixés et rincés comme précédemment, sont ensuite post-fixés au tétroxyde d'osmium à 1 % dans le même tampon pendant 1 h à 4° C. Après déshydratation, ils sont imprégnés dans un mélange alcool 100° RP-résine spurr (SPURR, 1969). Cette imprégnation est longue, progressive pour notre matériel délicat et difficile à pénétrer. Elle comprend :

- un bain alcool-spurr pendant 1 h (3V/1V)
- un bain alcool-spurr pendant 1 h (1V/1V)
- un bain alcool-spurr pendant 1 h (1V/3V)
- un bain spurr pur pendant 12 h

L'inclusion est réalisée dans de la résine pure qui polymérise en 8 h à 70° C. Les blocs sont taillés au pyramidotome Reichert Om V2. Quand les coupes semi-fines (2µm d'épaisseur) étalées sur lames et colorées au bleu de toluidine se révèlent intéressantes, des coupes ultrafines sont réalisées (0.5 µm) sur couteaux de verre et recueillies sur des grilles de cuivre (300 x 75 mesh) puis contrastées par l'acétate d'uranyle à saturation dans l'alcool

3-4-2 Osmorégulation

La faible taille des larves nous a conduit à pratiquer des prélèvements d'hémolymphe sous huile minérale (afin d'éviter les phénomènes d'évaporation et de dessiccation) par insertion dans le coeur d'une micropipette en verre. Cette technique nous a permis d'obtenir des résultats reproductibles à partir du stade zoé 2, soit pour des animaux mesurant 1.3 à 2 mm de long.

Pour les animaux plus âgés, les prélèvements d'hémolymphe ont été pratiqués sur des animaux préalablement séchés avec du papier filtre, et en fonction de leur taille, de la même manière chez les post-larves que chez les larves, ou à la seringue dans l'espace lacunaire sanguin ventral du telson chez les adultes.

Les mesures de pression osmotique de l'hémolymphe des larves et post-larves ont été réalisées sur un micro-osmomètre Kalber-Clifton requérant 30 à 50 µl. La pression osmotique de tous les milieux d'élevage ainsi que celle de l'hémolymphe des adultes, ont été également mesurées à l'aide d'un osmomètre Roebing nécessitant 3.5 ml.

3-5 MESURE DE L'ACTIVITE DE L'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ET DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE

3-5-1 Préparation des échantillons

Pour les dosages enzymatiques, nous avons utilisé des animaux entiers, et à partir du stade PL4 nous avons également mesuré l'activité ATPasique du céphalothorax seul.

Le nombre d'individus utilisés pour une mesure d'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ est de 150 nauplii et zoés, 60 mysis 2 + 3, 50 mysis 3 + PL1, 30 PL2, et PL3 + PL4, 10 PL6, PL8, et PL15. Elle nécessite 20 céphalothorax pour PL4 et 10 céphalothorax pour PL5, PL6, PL8 et PL11.

Chez les adultes, nous avons prélevé également par échantillon les 3 dernières paires branchiales, tous les épipodites et les deux banchiostégites.

Pour l'anhydrase carbonique, nous avons employé 200 nauplii, 100 zoés 2, 80 mysis 2, 30 PL1, 20 PL3, 5 PL4 + PL5, et 3 PL16 .

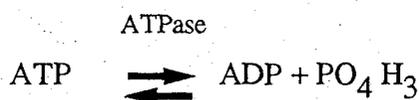
Les stades nauplius, zoé et mysis sont comptés à l'aide d'une pipette Pasteur, puis mis dans des tubes en verre pendant quelques minutes à -4°C afin d'accélérer la décantation et pouvoir éliminer l'eau de mer sans déperdition de larves.

Les animaux utilisés pour les mesures sont à jeûn depuis 16 à 24 h; en effet, les nauplii d'*Artémia* qui leur servent de nourriture présentent un taux élevé d'ATPase $\text{Na}^{+} - \text{K}^{+}$ (EWING *et al* , 1974).

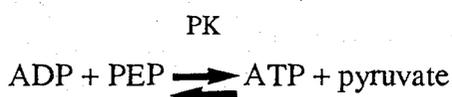
Les individus sont immergés dans du tampon glacé (Tris, 0.1 M; pH : 7.2) puis homogénéisés dans un homogénéiseur Potter à piston en téflon à 8000 t.mn^{-1} . Le volume est réajusté puis le broyat est centrifugé pendant 15 mn à 500 g et à 2°C . Chez les adultes (âgés de 8 mois environ), les branchies, épipodites et branchiostégites ont été broyés à l'Ultraturax à $24\,000 \text{ t.mn}^{-1}$ et le broyat centrifugé à 2000 g. Les mesures de l'activité enzymatique et le dosage des protéines sont effectués sur le surnageant conservé dans la glace pilée.

3-5-2 Mesure de l'activité de l'ATPase $\text{Na}^{+} - \text{K}^{+}$

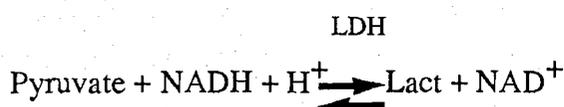
La mesure de l'activité de l'enzyme est basée sur la détermination indirecte de la production d'ADP par le système pyruvate-kinase-lactate déshydrogénase (FRITZ et HAMRICK, 1965, modifié par SALL *et al* , 1975). La séquence des réactions est la suivante:



ATPase : ATPase $\text{Na}^{+} - \text{K}^{+}$



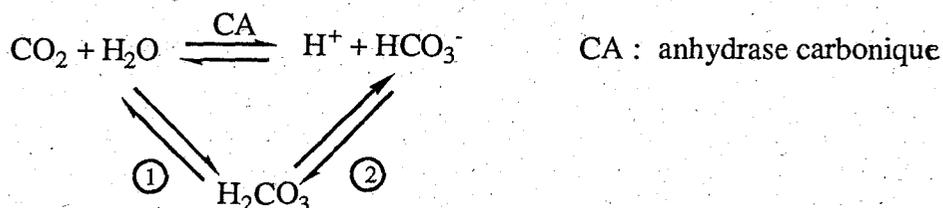
PK : pyruvate kinase



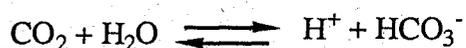
LDH : lactate déshydrogénase

3-5-3 Mesure de l'activité de l'anhydrase carbonique

L'enzyme catalyse la réaction suivante :



Comme la réaction ① est très lente devant ② la réaction s'écrit couramment



La mesure de l'activité enzymatique du surnageant est effectuée selon la technique décrite par MAETZ (1956), mais modifiée pour la mesure du CO_2 . Les milieux réactionnels se composent d'une part de NaHCO_3 dissous dans la soude et d'autre part d'un tampon phosphate mono et disodique de PH 6.83 contenant le surnageant (et donc l'enzyme). Au temps zéro, ces deux milieux sont instantanément mis en contact et vigoureusement brassés et le CO_2 dégagé par la décomposition de l'ion bicarbonate est mesuré volumétriquement par la technique de Gilson, c'est-à-dire à pression constante. Les fioles sont thermostatées à 5°C , la différence des volumes de CO_2 dégagé est exprimée en mm^3 de CO_2 dégagés par mn et par mg de protéines. Dans les mêmes conditions 1 U d'anhydrase carbonique Boehringer (érythrocyte bovin) dégage par mn 346 mm^3 de CO_2 .

3-6 CALCULS STATISTIQUES

La méthode utilisée est celle de l'analyse de variance. F* : différence significative (P= 0.05) ; F ** : différence hautement significative (P = 0.01) ; NS : différence non significative.

CHAPITRE IV

ONTOGENESE DES STRUCTURES OSMOREGULATRICES

4-1 INTRODUCTION

Les études histologiques synthétiques concernant la branchie des Décapodes sont peu nombreuses et parfois discordantes ; elles concernent surtout les branchies des Brachyours (DRACH, 1930; CHEN, 1933 ; SMYTH, 1942) . Dans le cas des Décapodes Macroours, nous ne connaissons qu'une étude sur *Palaemonetes varians* (ALLEN, 1892), ancienne mais qui n'en constitue pas moins un remarquable travail, et deux beaucoup plus récentes sur *Crangon vulgaris* (DEBAISIEUX, 1970) et sur *Penaeus aztecus* (FOSTER et HOWSE, 1978).

Les études ultrastructurales de la branchie de Crustacés adultes ont porté sur *Ocypode albicans* (FLEMISTER, 1959), *Callinectes sapidus* (COPELAND, 1964 a ; COPELAND et FITZJARREL, 1968), *Carcinus maenas* (COPELAND, 1964 a ; ALI, 1966; GOODMAN et CAVEY, 1988 ; COMPERE *et al.*, 1989), *Hemigrapsus oregonensis* et *Pachygrapsus crassipes* (WRIGHT, 1964), *Artemia salina* (COPELAND, 1967), *Gecarcinus lateralis* (COPELAND, 1968), *Pacifastacus leniusculus* (MORSE *et al.*, 1970), *Panulirus argus* (STRANGWAYS - DIXON et SMITH, 1970), *Astacus leptodactylus* (BIELAWSKI, 1971; FISHER, 1972; DUNEL-ERB *et al.*, 1982), *Gammarus oceanicus* (MILNE et ELLIS, 1973), *Jaera nordmanni* (BUBEL et JONES, 1974; BUBEL, 1976), *Procambarus clarkii* (BURGGREN *et al.*, 1974), *Cardina japonica* (NAKAO, 1974), *Ocypode ceratophthalma* (STORCH et WELSH, 1975), *Holtuisana transversa* (TAYLOR et GREENAWAY, 1979), *Asellus aquaticus* (BABULA, 1979), *Astacus pallipes* (DUNEL-ERB *et al.*, 1982), *Eriocheir sinensis* (BARRA *et al.*, 1983), *Uca mordax* (FINOL et CROGHAN, 1983), *Crangon crangon* (PAPATHANASSIOU, 1985), *Goniopsis cruentata* (MARTELO et ZANDERS, 1986). Nous ne connaissons par contre pas d'études ultrastructurales sur les branchies de larves et post-larves de Crustacés.

En ce qui concerne *Penaeus japonicus*, HUDINAGA (1942) a étudié l'ontogénie des branchies, mais à notre connaissance, aucune étude histologique, même succincte n'a été réalisée sur les branchies de cette espèce. Comme il est très généralement admis que ces organes sont parmi les régions les plus perméables de la surface du corps des Crustacés et représentent le site primaire de la régulation ionique et osmotique (MARGARIA, 1931 ; WEBB, 1940 ; revues in ROBERTSON, 1960 ; LOCKWOOD, 1962, 1968 ; GILLES,

1975 ; CROGHAN, 1976 ; KIRSCHNER, 1979 ; PEQUEUX et GILLES, 1981 ; TOWLE, 1984 a), nous avons donc entrepris leur étude générale en nous attachant surtout à rechercher l'épithélium impliqué dans l'osmorégulation. Sur la base des travaux de TALBOT et al(1972) et de FELDER et al(1986), nous avons également abordé la recherche d'autres épithéliums éventuellement osmorégulateurs : il s'agit des épithéliums du branchiostégite, de la pleure et des épipodites. Notre objectif final était la recherche d'une relation entre la mise en place des structures osmorégulatrices (branchies et autres) et l'acquisition des capacités osmorégulatrices de l'espèce que nous traiterons dans un chapitre ultérieur.

4-2 ETUDE MORPHOLOGIQUE DES BRANCHIES

4-2-1 Nombre de branchies et formule branchiale

De façon générale, on trouve 4 paires de branchies portées par le somite thoracique et l'appendice correspondant, qui sont de 3 types selon leur point d'insertion (fig 14) :

- * podobranchie fixée au coxopodite de l'appendice
- * arthrobranchie fixée à la membrane d'articulation entre l'appendice et le flanc de l'animal.
- * pleurobranchie fixée sur le bord pleural du somite, au dessus de la base de l'appendice.

La formule branchiale complète est la suivante : 1 podobranchie, 2 arthrobranchies et 1 pleurobranchie par somite. Le nombre maximum de véritables branchies est donc de 32, mais aucun Décapode connu ne possède ce nombre. En effet, le nombre de branchies est variable selon le genre et l'espèce. Chez le homard, il en existe 20 paires. Chez les écrevisses de l'hémisphère nord, on note 17 ou 18 paires, alors que celles de l'hémisphère sud en comptent 19 (LOCHHEAD, 1950). Chez les Paguridés, ce chiffre varie de 10 à 13 alors que chez les brachyours, ce nombre est plus réduit. Ainsi, la majorité des crabes marins et d'eau douce possèdent 9 paires de branchies (*Cancer* : PEARSON, 1908; *Carcinus* : BORRODAILLE, 1922; *Trichodactylus* : VALENTE, 1948).

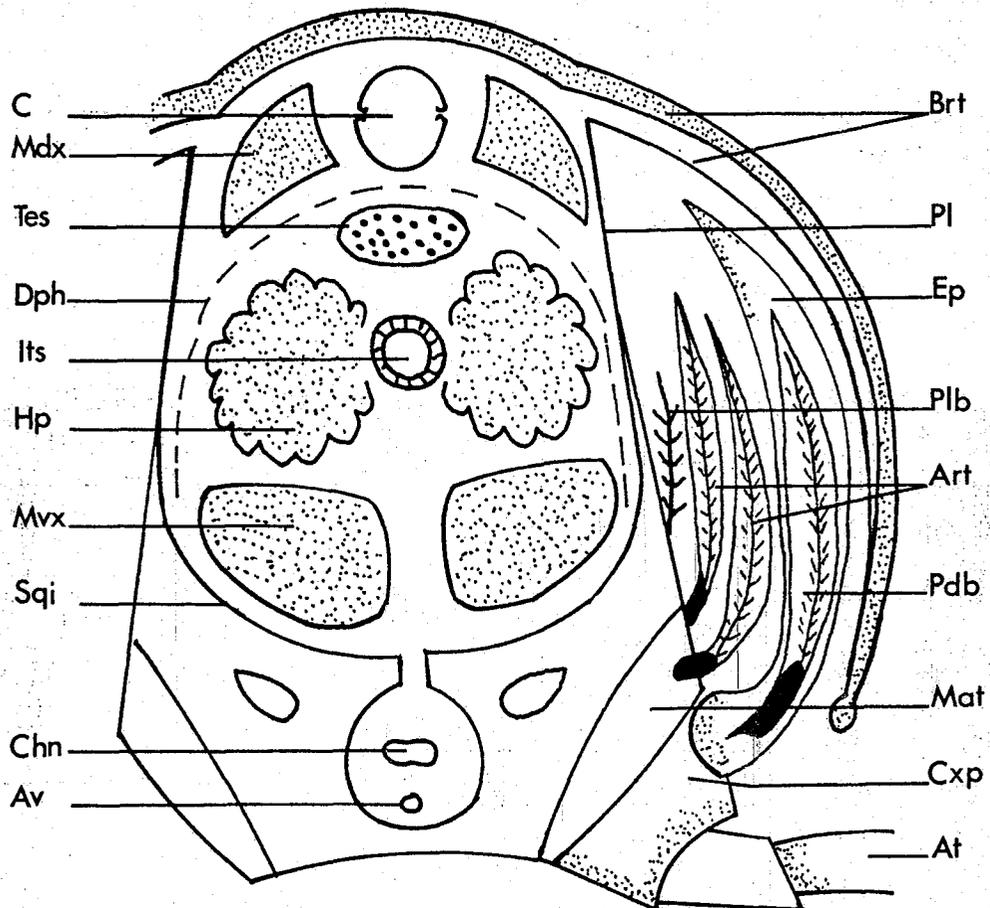


Fig. 14 : Schéma général d'une CT ou niveau du céphalothorax d'un Crustacé Décapode montrant la disposition des 3 types de branchies. Art : arthrobranchie ; At : appendice thoracique ; Av : artère ventrale ; Brt : branchiostégite ; C : coeur ; Chn : chaîne nerveuse ; Cxp : coxopodite ; Dph : diaphragme ; Ep : épipodite ; Hp : hépatopancréas ; Its : intestin ; Mat : membrane d'articulation ; Mdx : muscles dorsaux ; Mvx : muscles ventraux ; Pl : pleure ; Pdb : podobranchie ; Plb : peulorbranchie ; Sqi : squelette interne ; Tes : testicule.

développent plus tardivement. Pour éviter une telle situation, les rudiments podobranchiaux régressent. Par contre, chez l'écrevisse *Astacus* où l'éclosion n'a lieu que lorsque la larve est complètement formée, les podobranchies se forment en premier, persistent et les pleurobranchies se forment en dernier. L'explication de BUCHANAN paraît tout-à-fait plausible. Néanmoins, avec *P. japonicus*, nous nous trouvons peut-être devant une exception à cette règle générale. Il n'y a en effet aucun doute quand à la présence d'une podobranchie portée par le 2ème maxillipède chez l'adulte. Est-elle présente uniquement chez *P. japonicus* ? Des dissections sur quelques autres Pénéides permettront d'établir une comparaison afin de généraliser ou non cette constatation .

4-2-2 Forme et dimension des branchies

Chaque branchie est comprimée contre les branchies voisines d'une part, contre la paroi interne et la paroi externe de la cavité branchiale d'autre part. Etant donné la sorte de moulage que subit ainsi chaque branchie de la part des parties avoisinantes, il n'est pas étonnant que les branchies soient différentes les unes des autres quant à leur forme et à leurs dimensions (Fig 15, 16). Celles-ci dépendent, notamment, du rang occupé par la branchie dans la cavité branchiale, qui est loin d'avoir la même largeur au niveau des différents segments du céphalothorax. Il n'est pas étonnant non plus que chacune des branchies soit plus ou moins dissymétrique par rapport à son axe principal (fig 23), les volumes offerts aux deux séries de lamelles n'étant pas identiques.

Chez un subadulte de 11.5 cm de longueur (longueur rostre-telson), les branchies les plus grandes sont les pleurobranchies du cinquième périopode avec 7 mm de longueur sur 1 à 1.5 mm de largeur. La plus petite branchie est la deuxième arthrobranchie portée par le deuxième maxillipède avec 2 mm de longueur sur 0.5 mm de largeur.

4-2-3 Morphologie des branchies (Fig 15 à 21)

Une branchie de Décapode est constituée essentiellement par une partie médiane allongée, plus ou moins aplatie, sur les deux faces de laquelle sont insérés soit des tubes, soit des lamelles.

Selon la classification établie par HUXLEY (1896), les branchies de *P. japonicus* et de toutes les *Pénéides* appartiennent à la catégorie des dendrobranchies. La dendrobranchie

PLANCHE V

Branchies de *P. japonicus* juvénile

Fig 15 : Arthrobranchie du 3ème péréiopode, face ventrale

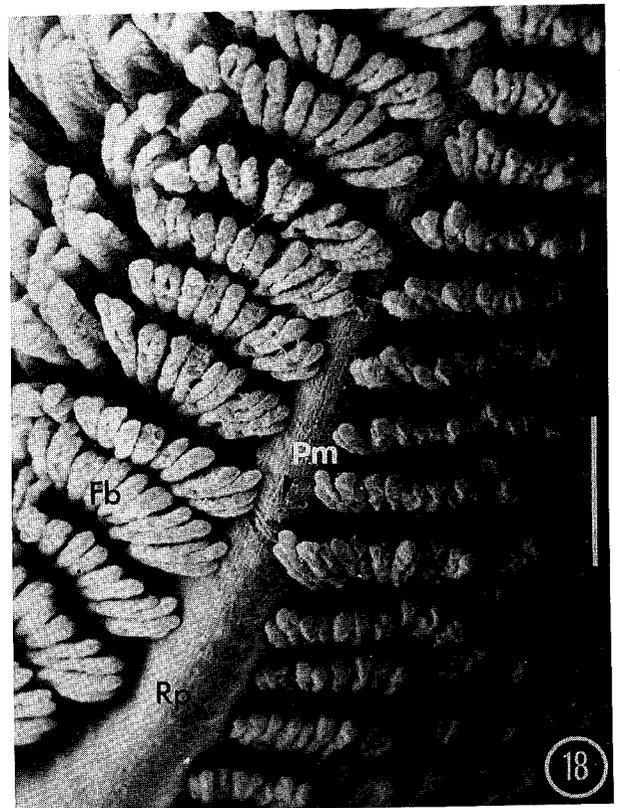
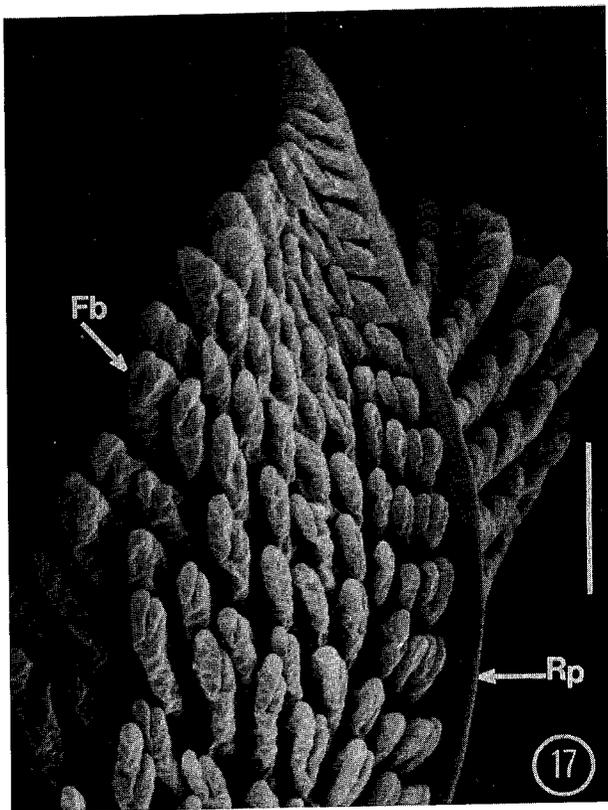
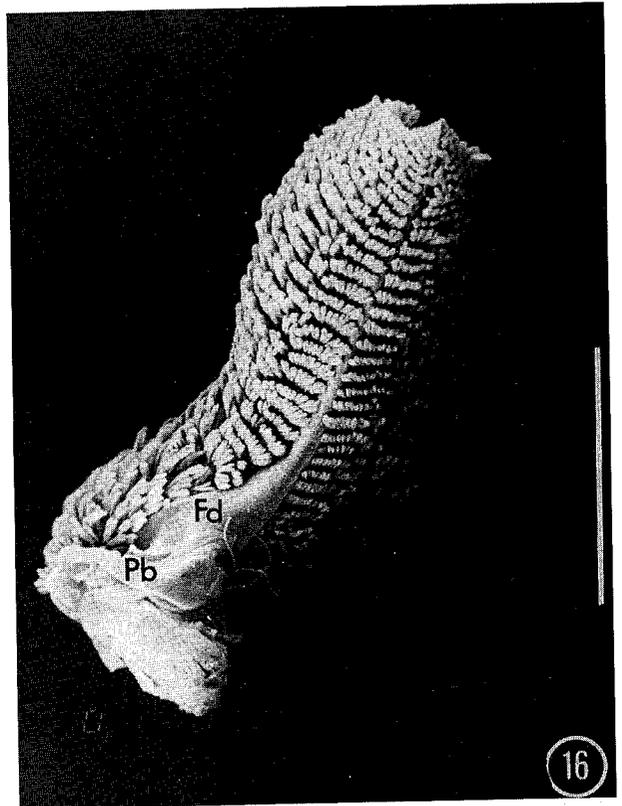
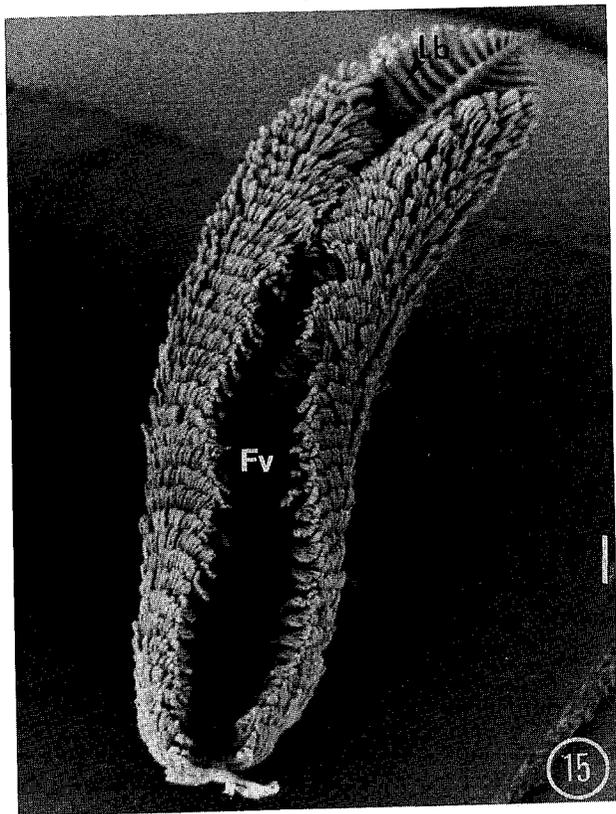
Fig 16 : Podobranchie du 2ème maxillipède, face dorsale. Cette branchie est plus large que la branchie précédente et est plus incurvée vers la base .

Fig 17 : Apex d'une branchie. Les lamelles branchiales diminuent de longueur à ce niveau .

Fig 18 : Raphé d'une branchie, face dorsale .

Abréviations : Fb : filament branchial ; Fd : face dorsale ; Fv : face ventrale ; Pb : pédoncule branchial ; Pm : pore à mucus ; Rp : raphé.

Echelle : Chaque segment correspond à 50 μ m.



consiste en un axe ou raphé portant symétriquement des lamelles branchiales dont la surface décroît de la base vers l'apex de la branchie (fig 17). Chaque lamelle porte à son tour des filaments branchiaux orientés perpendiculairement à son axe et qui présentent au moins deux bifurcations (fig 17, 18, 19). Chaque branchie est attachée à la base par sa face dorsale au segment thoracique par un court pédoncule de structure tubulaire (fig 16). Le raphé présente sur ses deux faces des pores à mucus. De plus, sur la face ventrale de la branchie (qui est située vers l'extérieur de l'animal) on distingue des soies ayant un rôle dans la circulation de l'eau au niveau de la cavité branchiale (fig 20, 21).

4-3 ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA BRANCHIE DE L'ADULTE DE *P.JAPONICUS*

La branchie lamelleuse de *P. japonicus* présente diverses structures :

- * un épithélium unistratifié (dont nous reparlerons plus loin) qui couvre toute la surface branchiale. Il est recouvert d'une couche de cuticule qu'il secrète. Cette cuticule plus ou moins épaisse au niveau du raphé s'amenuise au niveau des lamelles pour devenir très mince au niveau des filaments.

- * un réseau longitudinal qui divise la lumière de chaque structure tubulaire, raphé, lamelles et filaments en vaisseau afférent externe par rapport à l'animal, et en vaisseau efférent interne (fig 22, 23). Un troisième petit vaisseau est localisé entre une couche de néphrocytes qui font face au vaisseau efférent et le réseau qui sépare le vaisseau efférent et afférent dans le raphé et les lamelles. Dans ce vaisseau auxiliaire, l'hémolymphe remplit souvent les espaces interstitiels formant des lacunes hémolympatiques (fig 24, 25), mais le rôle de ce vaisseau dans la circulation branchiale n'est pas encore très clair. La présence en même temps de vaisseaux et de lacunes hémolympatiques suggère qu'un système vasculaire à la fois de types fermé et ouvert est présent dans les branchies de *P. japonicus*.

- * des groupes de néphrocytes toujours fixés sur le réseau (fig 23), tant sur le raphé que dans les lamelles, entourant les vaisseaux efférents. Cette association anatomique constante d'un système de néphrocytes à l'appareil branchial est une particularité des Décapodes. KOWALESKI (1889) a montré que ces cellules fonctionnent comme des reins

PLANCHE VI

Branchie de *P. japonicus* juvénile

Fig 19 : Bifurcation des filaments

Fig 20 : Face ventrale du raphé. On note la présence de soies.

Fig 21 : Face ventrale du raphé. Soies et pores à mucus.

Abréviations : Fb : filament branchial ; Pm : pore à mucus ; S : soie.

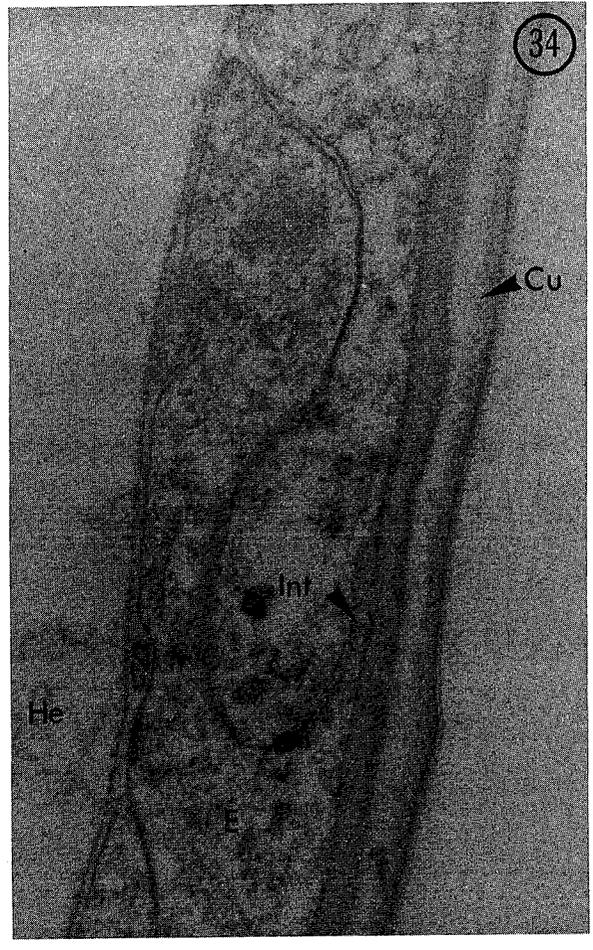
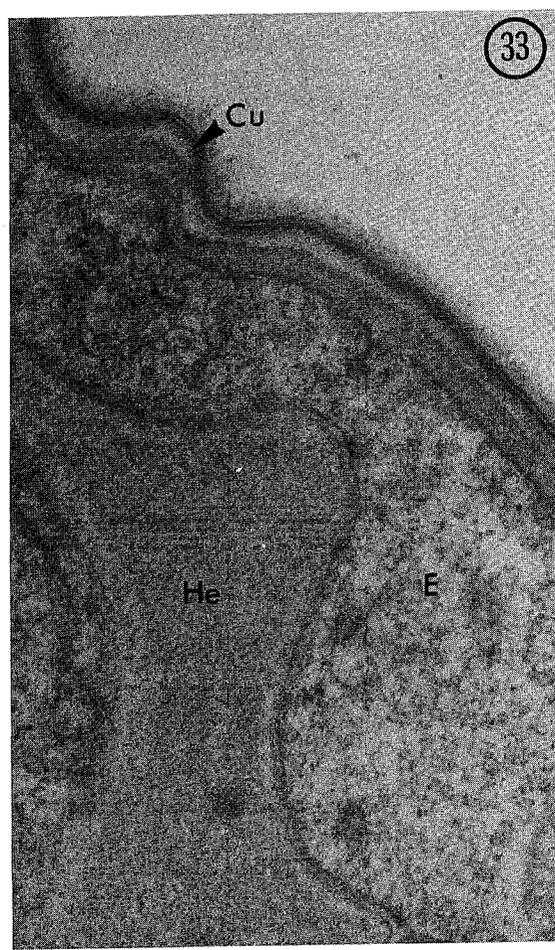
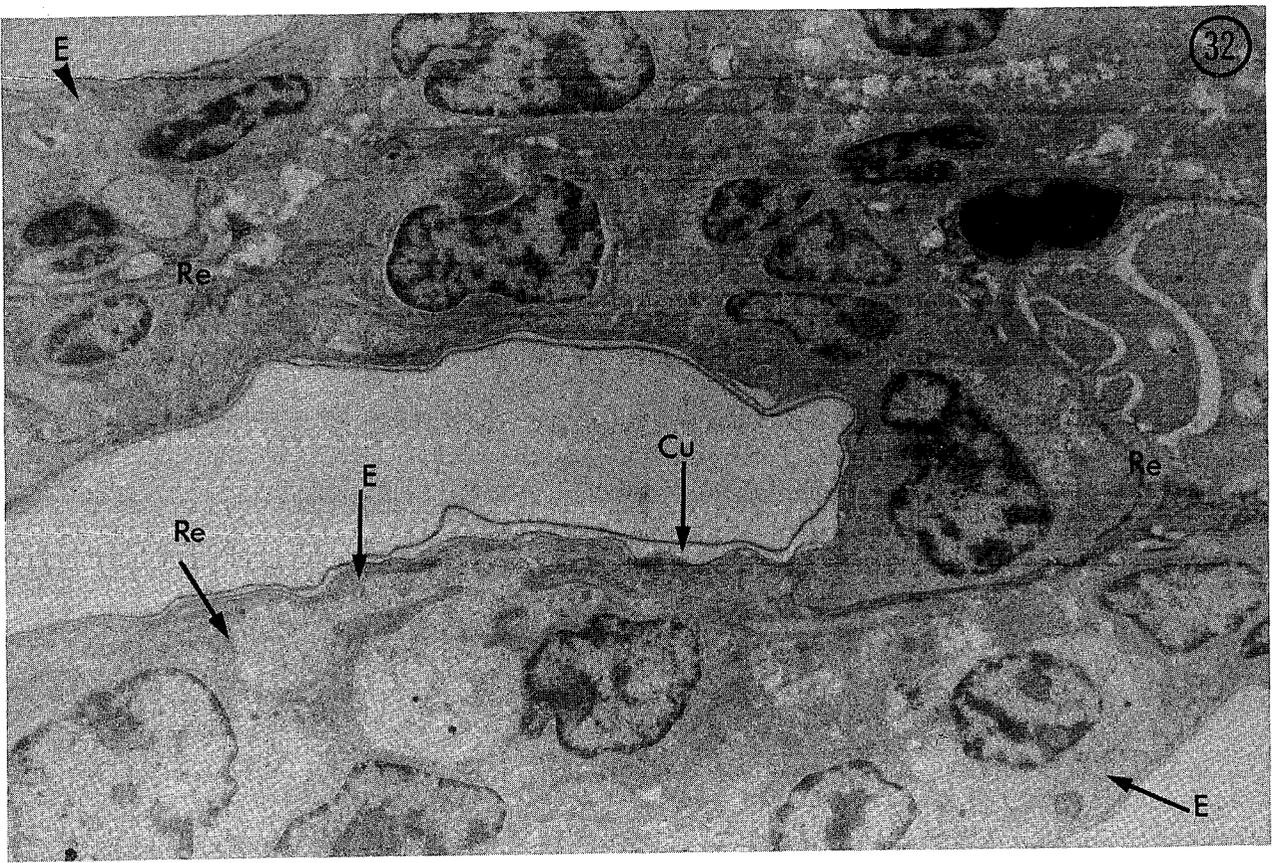
Echelle : Chaque segment correspond à 50 μm pour les fig 19 et 20 et à 10 μm pour la fig 21

PLANCHE IX

Branchie de *P. japonicus* juvénile

- Fig 32** : Lamelle branchiale et bifurcation en deux filaments. A ce niveau là, le réseau cellulaire est très dense et on n'observe presque pas de lacunes hémolympatiques (x 4700).
- Fig 33** : Filament branchial. L'épithélium à certains endroits ne contient presque pas d'organites intracellulaires (x 35 000)
- Fig 34** : Filament branchial. L'épithélium est généralement très mince. Des interdigitations latérales renforcent la cohésion intercellulaire. On remarque également l'absence d'organites intracellulaires (x 35 000).

Abréviations : Cu : cuticule ; E : épithélium ; He : hémolymphe ; Int : interdigitation ;
Re : réseau .



(0.3 -0.8 μm) (fig 35, 36) généralement perpendiculaires à la cuticule. Ces microvillosités peuvent s'interrompre en certains endroits (fig 37). Lorsqu'elles existent, elles déterminent des espaces sous cuticulaires importants. Au niveau des zones de microvillosités, le cytoplasme renferme de nombreuses mitochondries, généralement d'assez grande taille (3.4 μm) occupant presque la totalité du cytoplasme. Leur matrice faiblement dense aux électrons renferme des crêtes lamellaires (sur la figure 36, les mitochondries ne sont pas bien visibles). Mis à part les mitochondries, le cytoplasme plus dense aux électrons que celui de l'épithélium simple que nous avons observé chez la PL 10 et chez l'animal âgé de 3 mois est tout aussi pauvre en organites intracellulaires. Néanmoins, nous avons pu observer du Rea, du Reg, des grains de glycogène et des granules cytoplasmiques. Entre les cellules épithéliales dont les limites cellulaires sont mal définies, existent parfois d'importantes lacunes qui ne semblent pas des artéfacts (fig 37). Dans les filaments, le passage de l'hémolymphe entre les canaux afférent et efférent se fait par l'intermédiaire de ces lacunes périphériques qui sont ménagées entre les cellules épithéliales.

Nous n'avons pas observé de vésicules de pinocytose à la base des microvillosités, ni d'invagination basale, de même que nous n'avons noté aucune différence significative entre branchies antérieures, médianes et postérieures.

4-4-2 Autres structures épithéliales différenciées

Trois autres types de tissus ont été examinés (fig 14 pour leur localisation) : l'épithélium du branchiostégite, c'est-à-dire l'épithélium de la partie latéro-externe de la chambre branchiale, l'épithélium du flanc de l'animal que l'on réfère à la pleure ou pleurite. Ces deux tissus limitent donc la cavité branchiale, et l'épipodite. Ce dernier est représenté par une lame, fourchue à son extrémité, portant des soies sur sa surface et fixée sur le coxopodite de l'appendice thoracique par un pédoncule court et rigide. Chez *P. japonicus*, les épipodites sont au nombre de 6 dans chaque cavité branchiale, portés par les trois maxillipèdes et les trois premiers péréiopodes et s'intercalant entre les branchies (Fig 22).

PLANCHE X

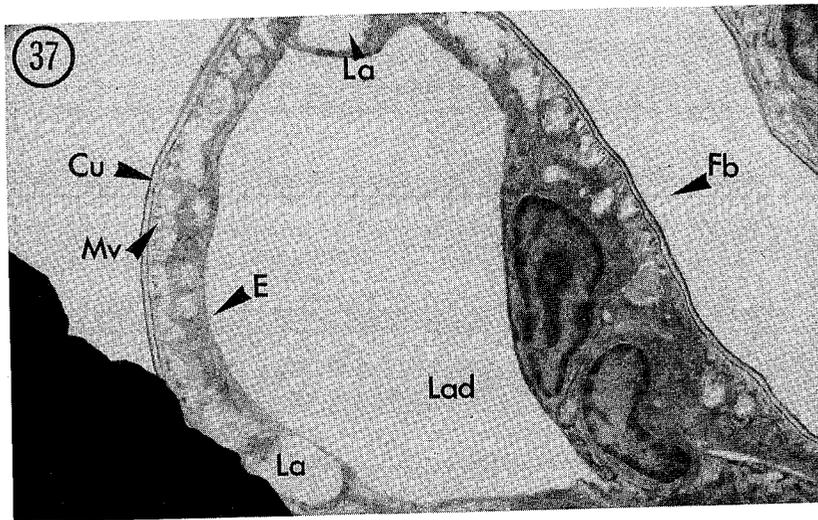
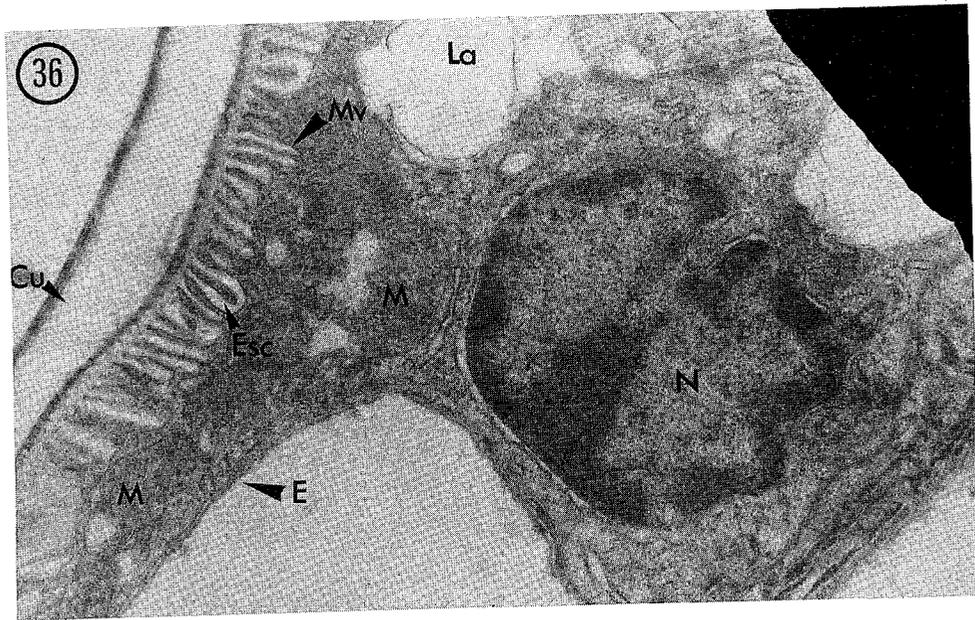
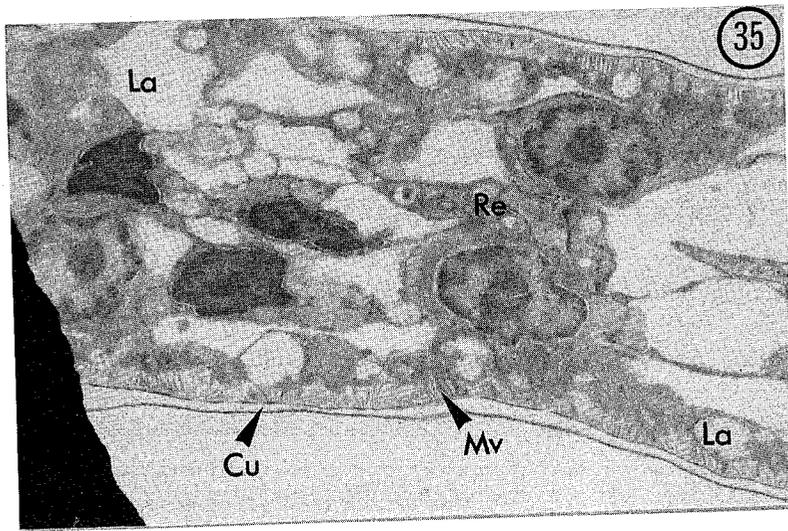
Branchie de *P. japonicus* juvénile

Fig 35 : Lamelle branchiale. L'épithélium présente des microvillosités à la face apicale. Des lacunes hémolymphatiques existent au sein du réseau cellulaire (x 3300).

Fig 36 : Les microvillosités apicales délimitent des espaces sous cuticulaires importants. Les mitochondries (difficilement discernables à cause de leur faible densité électronique) sont disposées à la base des microvillosités (x 11 000).

Fig 37 : Extrémité distale d'un filament branchial. Entre les cellules épithéliales se trouvent des lacunes hémolymphatiques. Une importante lacune distale occupe l'extrémité du filament (x 3500).

Abréviations : Cu : cuticule ; E : épithélium ; Esc : espace sous-cuticulaire ; Fb : filament branchial ; La : lacune hémolymphatique ; Lad : lacune hémolymphatique distale ; M : mitochondrie ; Mv : microvillosité ; N : noyau.



4-4-2-1 Chez les larves

- Chez la zoé 2

Des coupes ultrafines réalisées au niveau de la partie postérieure du céphalothorax de *P. japonicus* au stade zoé 2 ont permis les observations suivantes :

Le branchiostégite (fig 38)

La cavité branchiale est entièrement ouverte à ce stade et le branchiostégite a une orientation presque parallèle à la surface dorsale du céphalothorax. Il est constitué de deux feuillets épithéliaux monostratifiés distincts, séparés par un espace hémolympatique plus ou moins régulier (fig 38). Les épaisseurs du feuillet externe et interne sont respectivement de 1.4 et 2.8 μm). Le feuillet interne est donc plus épais, par contre, il possède une cuticule beaucoup plus mince que celle de la face externe. Les noyaux de taille variable sont allongés et la chromatine forme des mottes périphériques ; celle-ci peut être néanmoins dispersée chez quelques rares noyaux. Le cytoplasme des deux feuillets est riche en Reg sous forme de vésicules allongées et dilatées, en ribosomes libres et en vésicules cytoplasmiques. Au niveau de la face externe, existe des amas de chromatophores.

A la partie inférieure du branchiostégite, les deux feuillets se rejoignent, et l'espace hémolympatique n'existe plus, le bord terminal se caractérise par d'énormes lacunes et le cytoplasme s'appauvrit en organites.

La pleure (fig 39, 40)

Il existe deux types d'épithélium pleuraux : un épithélium d'épaisseur appréciable (5 - 7.8 μm) et un épithélium mince (1.4 - 4 μm).

L'épithélium épais a un bord apical largement dentelé (fig 39) et repose sur une membrane basale assez nette (fig 40). Dans la partie basale des cellules, on observe des invaginations plus ou moins importantes dont les plus grandes atteignent environ les 2/3 de la hauteur de l'épithélium. Les invaginations peuvent être aussi latérales. Elles renferment entre elles de nombreuses mitochondries, généralement de forme allongée (1 à 1.6 μm),

PLANCHE XI

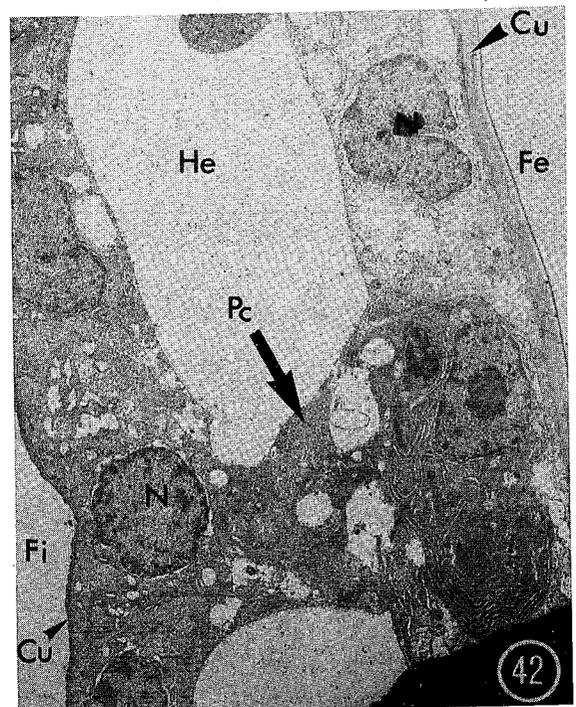
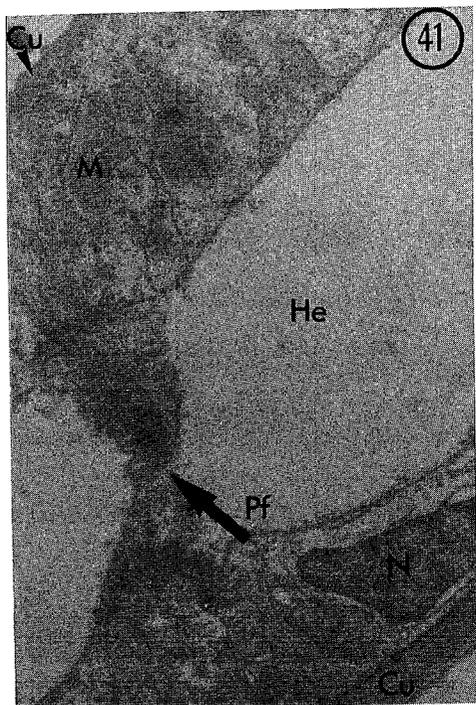
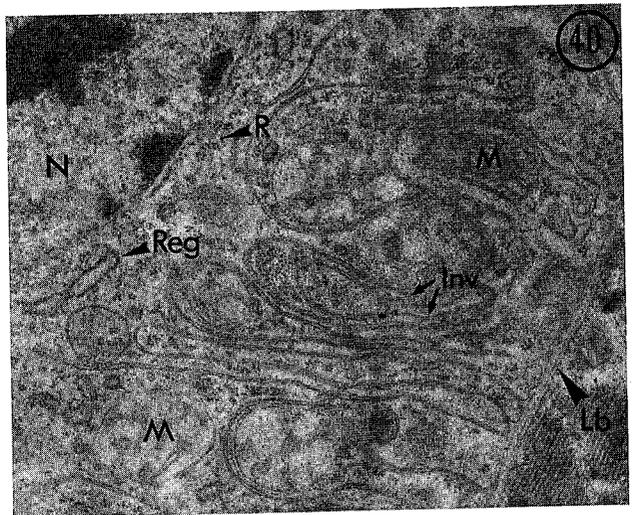
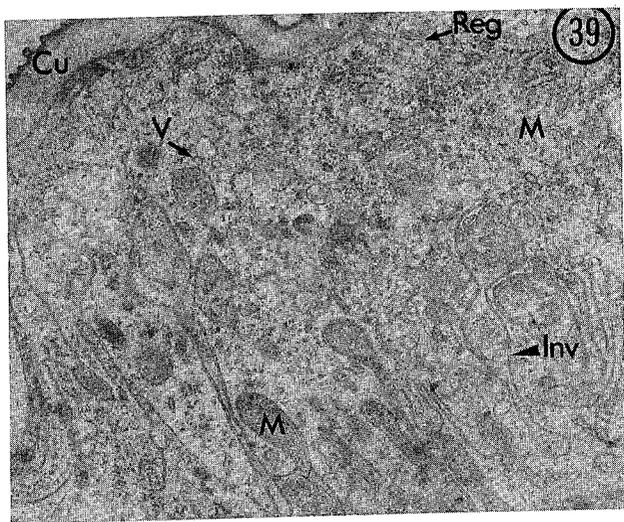
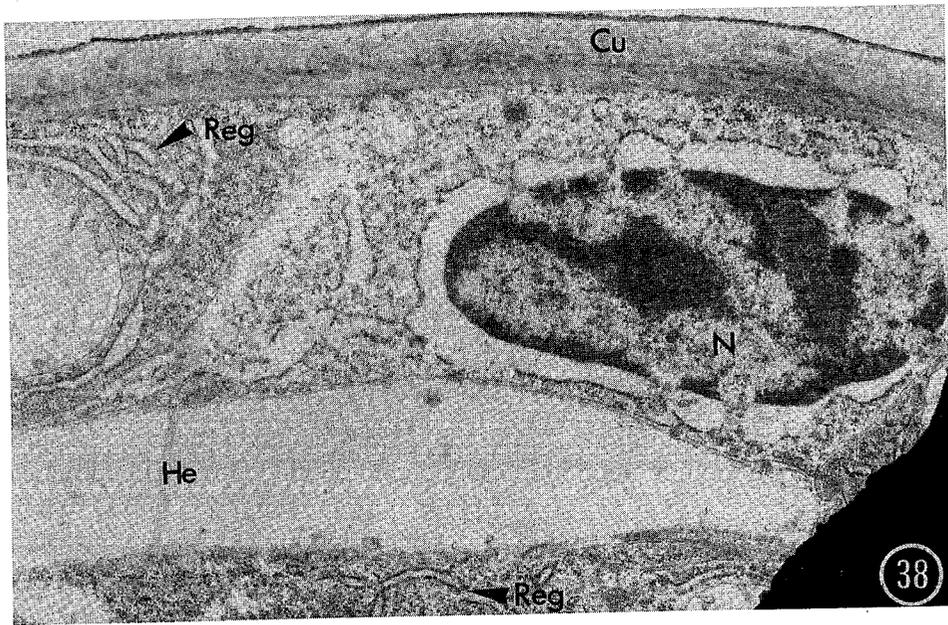
Tissus différenciés de la surface interne de la cavité branchiale de larves de *P. japonicus*

Fig 38 : Branchiostégite de Zoé 2. CT au niveau de la région postérieure du céphalothorax. Les deux feuillets du branchiostégite sont constitués par un épithélium aplati. Noter la richesse en Reg (x 14000)

Fig 39,40 : Epithélium pleural de Zoé 2. CT au niveau de la région postérieure du céphalothorax. Cet épithélium est caractérisé par de nombreuses invaginations basales associées à des mitochondries (x 11 000 et x 17 000).

Fig 41, 42: Branchiostégite de la Mysis 3. Coupe au niveau de la région antérieure ou moyenne du céphalothorax. Deux catégories de piliers réunissent les deux feuillets : pilier fibrillaire (fig 41) ou cytoplasmique (fig 42) (x 6400 et x 2300).

Abréviations : Cu : cuticule ; Fe : face externe ; Fi : face interne ; He : hémolymphe ; Inv : invagination ; Lb : lame basale ; M : mitochondrie ; N : noyau ; Pc : pilier cytoplasmique ; Pf : pilier fibrillaire ; Reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Ri : ribosome.



dont la matrice moyennement dense aux électrons contient des crêtes lamellaires.

Dans la portion cytoplasmique située entre la face apicale et le sommet des invaginations, existent aussi de nombreuses et volumineuses mitochondries (1 à 1.3 μm), certaines situées très près du bord apical des cellules. Cette portion cytoplasmique renferme également un grand nombre de Reg, des ribosomes libres et des vésicules de petite taille. Les noyaux sont de forme arrondie, la chromatine en mottes est périphérique, la membrane et pores nucléaires sont nets et la zone périnucléaire est assez riche en Reg.

L'épithélium mince apparaît à certains endroits mais s'épaissit au niveau des noyaux, ceux-ci ont une forme très allongée (11 sur 3.5 μm) Le cytoplasme contient quelques mitochondries et du réticulum endoplasmique qui est par contre lisse. Ce type d'épithélium pleural est différent du précédent surtout par l'absence totale des invaginations latérobasales.

L'épipodite

L'épipodite n'existe pas encore chez le stade zoé 2. Il apparaîtra au stade mysis 2

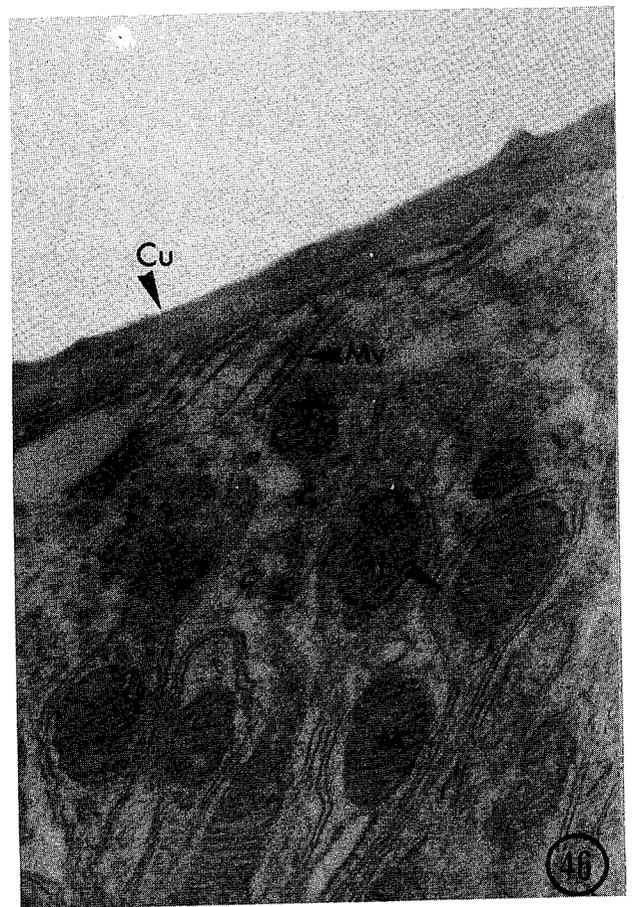
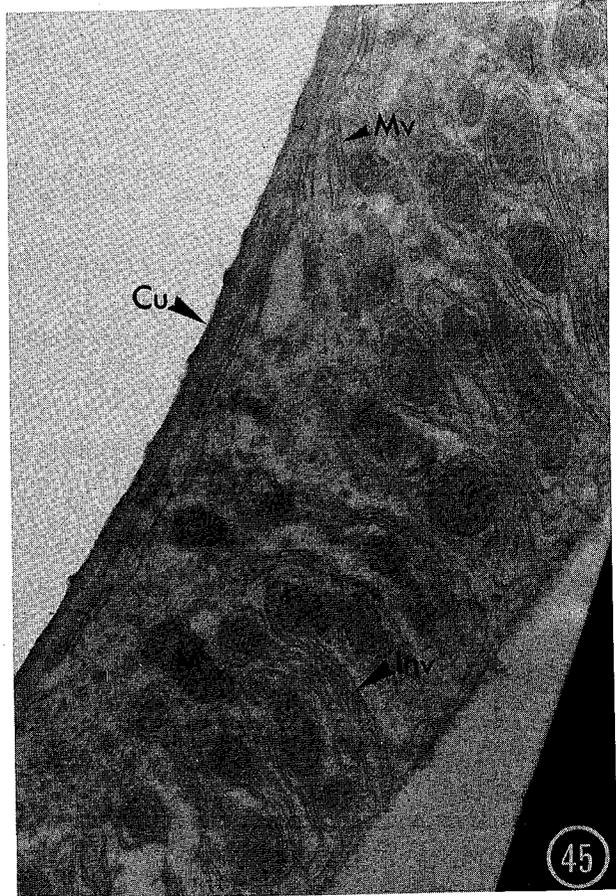
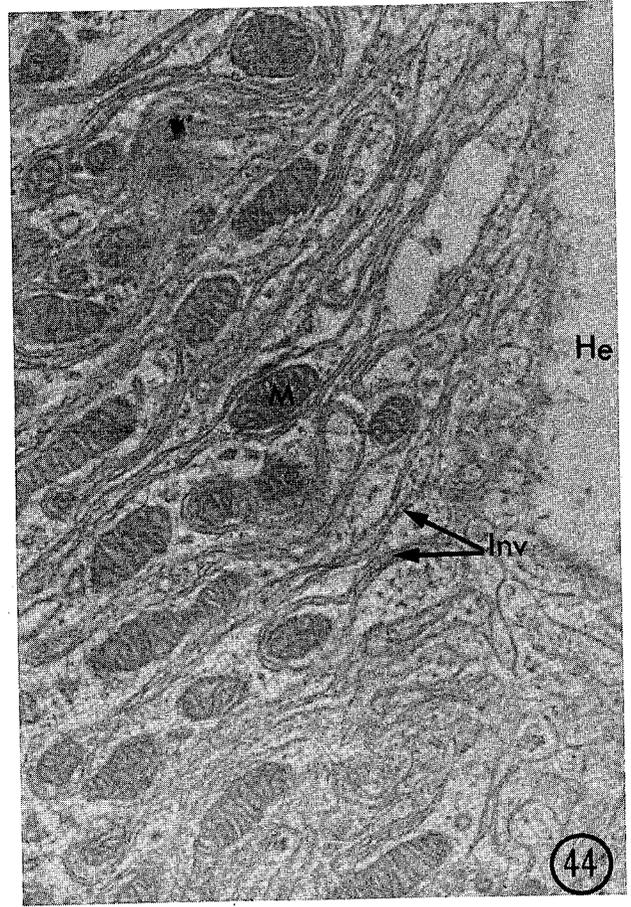
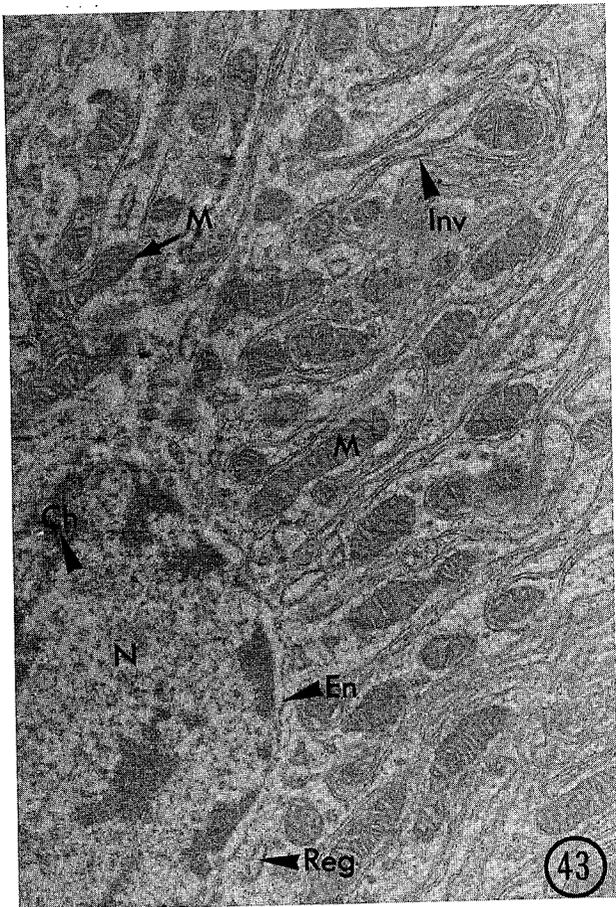
- Chez la mysis 3

Des coupes ultrafines réalisées au niveau de la partie antérieure et moyenne du céphalothorax de la mysis 3 ont permis les observations suivantes :

Le branchiostégite

Les deux feuillets du branchiostégite ont généralement des épaisseurs différentes. Le feuillet externe mesure 1 à 2.2 μm avec une cuticule de 0.7 μm , alors que le feuillet interne mesure en moyenne 4.4 μm avec une cuticule de 0.1 μm . Ils sont séparés par un grand espace hémolympatique de 6.6 μm de largeur dans lequel se trouvent quelques hémocytes. A certains endroits, les deux feuillets sont réunis par des piliers qui peuvent être de deux sortes (fig 41, 42) :

* pilier fibrillaire caractérisé par d'abondantes fibres prenant naissance au niveau de la face apicale de chaque cellule. Épaisses dans cette région, elles convergent vers le pont



Dans les zones non différenciées, l'épithélium pleural a une épaisseur de 3 μm environ, les noyaux allongés (5.5 sur 3 μm) sont plus fréquents, leur chromatine est éparse et leur membrane nucléaire est très nette et recouverte extérieurement par des ribosomes. Le cytoplasme contient des mitochondries dispersées, pour la plupart petites et de forme sphérique; sporadiquement, il peut y avoir quelques microvillosités apicales. A d'autres endroits, l'épithélium pleural est encore plus banal, très aplati avec uniquement quelques rares noyaux dans le cytoplasme.

Partout, la lame basale est très difficilement discernable à cause de son aspect très fibreux.

L'épipodite

Les deux épipodites qui apparaissent chez la mysis 2 au niveau du premier et deuxième maxillipède sont encore trop petits chez la mysis 3 pour une observation correcte.

4-4-2-2 Chez les post-larves

Le branchiostégite (Fig 47 à 49)

Chez les stades post-larvaires (PL10), l'épithélium interne du branchiostégite, nettement plus épais (12.4 - 14 μm) que chez les larves, présente la même structure que celle décrite précédemment chez la mysis 3 (Fig 47, 48). On y retrouve les mêmes différenciations. Des microvillosités de 1 - 2 μm de longueur existent au pôle apical. Elles sont néanmoins plus nombreuses et plus régulières que chez les larves. Des invaginations fines, nombreuses et très serrées existent au pôle basal, certaines arrivent très près de la membrane apicale laissant un espace de 1.6 μm). Des mitochondries à disposition parallèle sont situées entre les invaginations. Les plus allongées (11.6 sur 0.5 μm) sont localisées entre les invaginations et les plus petites, de forme sphérique (0.3 μm) occupent leurs extrémités (fig 47,49).

Une petite bande cytoplasmique existe entre le sommet des invaginations et la base de microvillosités. Il s'y trouve de nombreuses mitochondries dont la plupart ont une forme

PLANCHE XIII

Fig 47 à 49: Feuillet interne du branchiostégite de post-larve PL10 de *P. japonicus*

Fig 47 ,48 : vue générale de l'épithélium. Il existe une différenciation apicale en microvillosités et une différenciation basale en invaginations. Ces deux structures sont étroitement associées à un grand nombre de mitochondries, sur la figure 47, la cuticule a été enlevée. (x 6300 et x 5200).

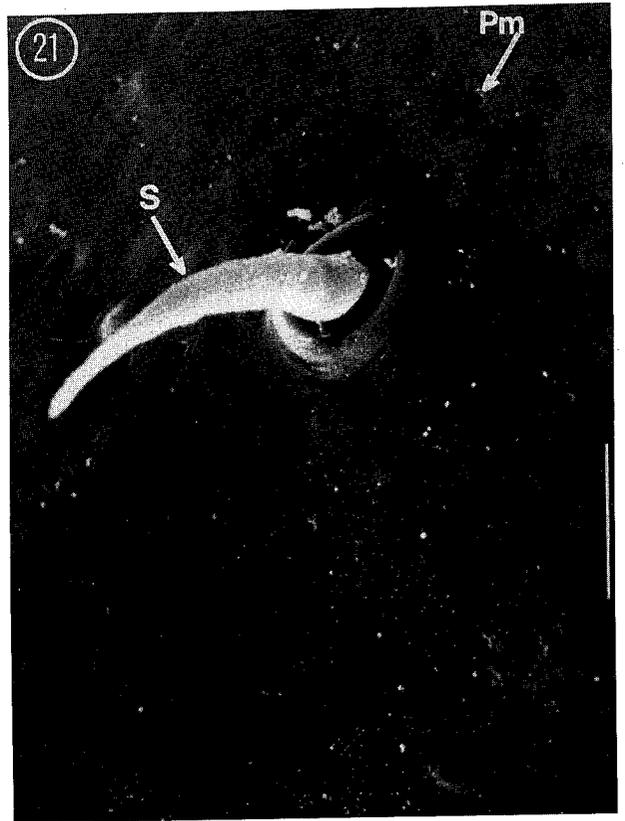
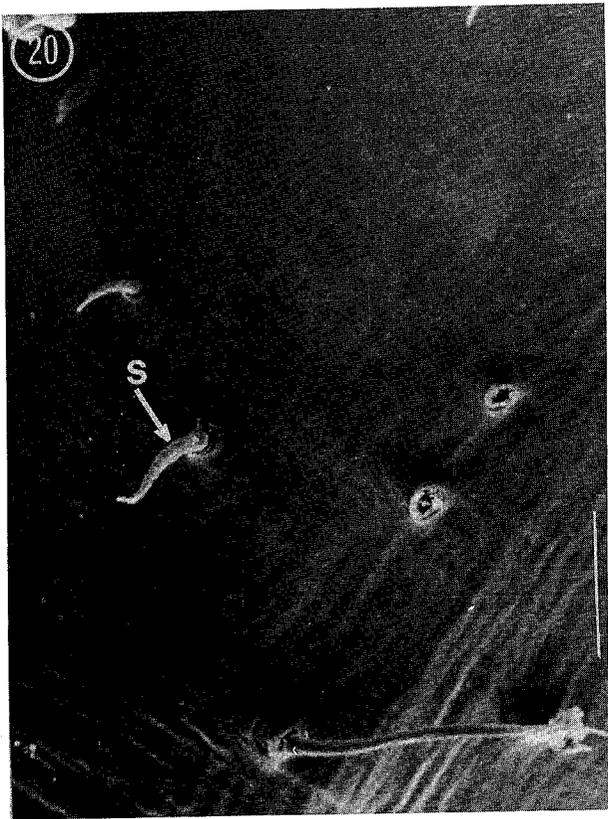
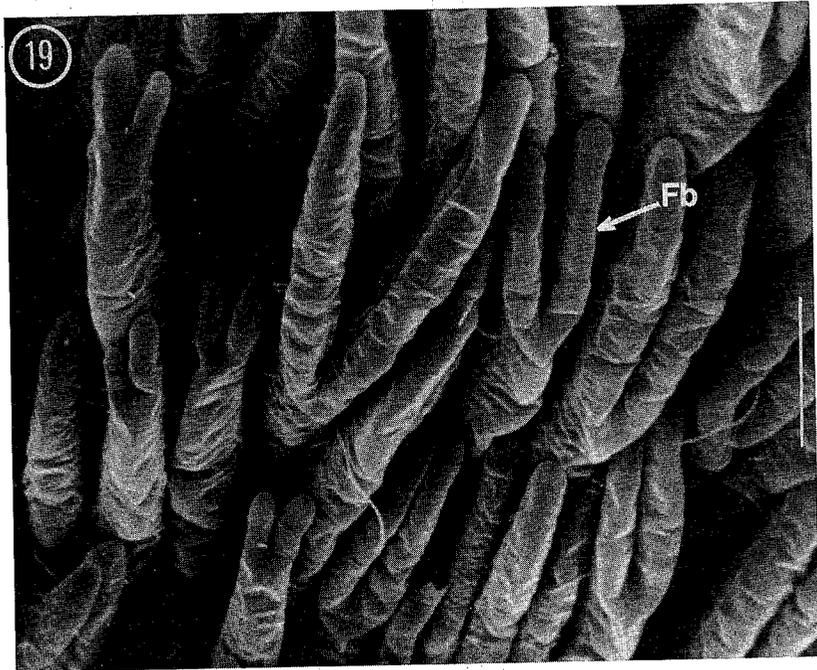
Fig 49 : détail de l'association mitochondries / invaginations (x 13 000).

Fig 50 : CT de céphalothorax de post-larve PL5 de *P. japonicus* . Disposition des éléments de la chambre branchiale, branchiostégite replié ventralement, épipodite fourchu encadrant la branchie.

Fig 51 : Détail de l'épipodite de post-larve PL 5.

Abréviations : B : branchie ; Brt : branchiostégite ; Cb : cavité branchiale ; Cu : cuticule; E: épithélium ; Ep : épipodite ; Hem : hémocytes ; Int : interdigitation ; Inv : invaginations; Lad : lacune hémolympatique distale ; M : mitochondrie; N : noyau ; Nu : nucléole ; Pil : pilier ; St : strie.

Echelle : Chaque segment correspond à 30 μ m.



d'accumulation. CUENOT a confirmé ce rôle dans son mémoire de 1895 d'où l'appellation de "néphrocytes". Ces cellules renferment une ou plusieurs vacuoles plus ou moins importantes dont le contenu a un aspect clair, le cytoplasme et le noyau sont refoulés à la périphérie. Ces néphrocytes accumulent des substances dans les vacuoles, leur activité selon DRACH (1930) pourrait être en rapport avec la mue.

* des piliers (fig 25) qui maintiennent écartés les deux faces opposées de chaque lamelle ou filament en délimitant entre eux des lacunes hémolymphatiques dans lesquelles on observe souvent de nombreux hémocytes (fig 25). Chez *P. japonicus*, TSING *et al* (1988) ont tenté une classification de ces cellules sanguines. Ces auteurs décrivent 3 types d'hémocytes circulant se distinguant par la taille des granules cytoplasmiques; les hémocytes à gros granules (HGC : 1) les hémocytes à petits granules (HPG : 2) et les hémocytes peu différenciés (HPD : 3); l'existence de ce troisième groupe est discutée. Sur la figure 25, seuls les hémocytes 2 et 3 sont représentés.

4-4 BRANCHIES ET STRUCTURES OSMOREGULATRICES AU COURS DU DEVELOPPEMENT DE *P. JAPONICUS*

4-4-1 Branchies

4-4-1-1 Chez les larves (fig 26, 27)

Chez *P. japonicus*, les branchies apparaissent chez les derniers stades larvaires: HUDINAGA (1942) signale chez les mysis 1 la présence de 4 rudiments arthrobranchiaux sur le troisième maxillipède et les trois premiers péréiopodes. Il les décrit comme étant très petits et souvent à peine visibles. Une arthrobranchie supplémentaire apparaît sur ces appendices chez la mysis 2, les arthrobranchies deviennent légèrement plus grandes chez la mysis 3 alors qu'une minuscule arthrobranchie apparaît sur le quatrième péréiopode. Les observations de cet auteur se limitèrent au nombre et à la dimension de ces organes.

Chez la mysis 2, nous avons par histologie photonique noté la présence de rudiments branchiaux qui ne sont encore que des bourgeons situés au niveau du coxopodite de l'appendice. Nous considérons ces formations, à ce stade là, comme étant encore des

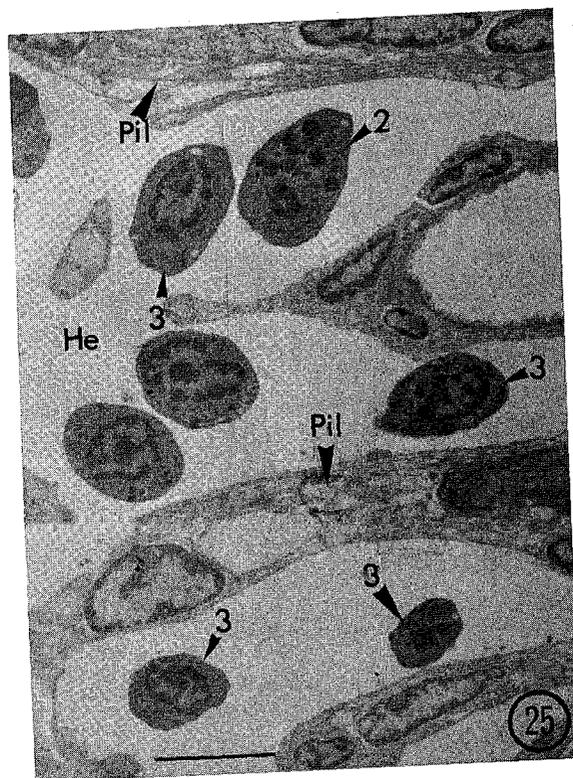
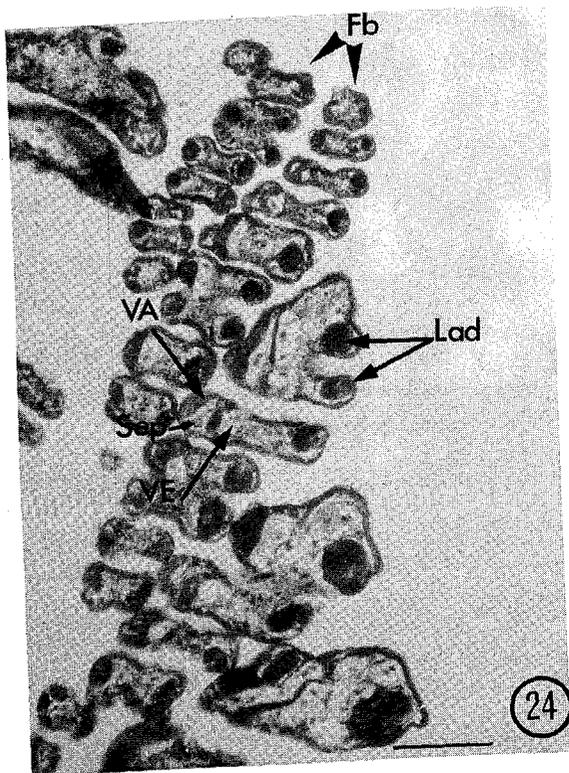
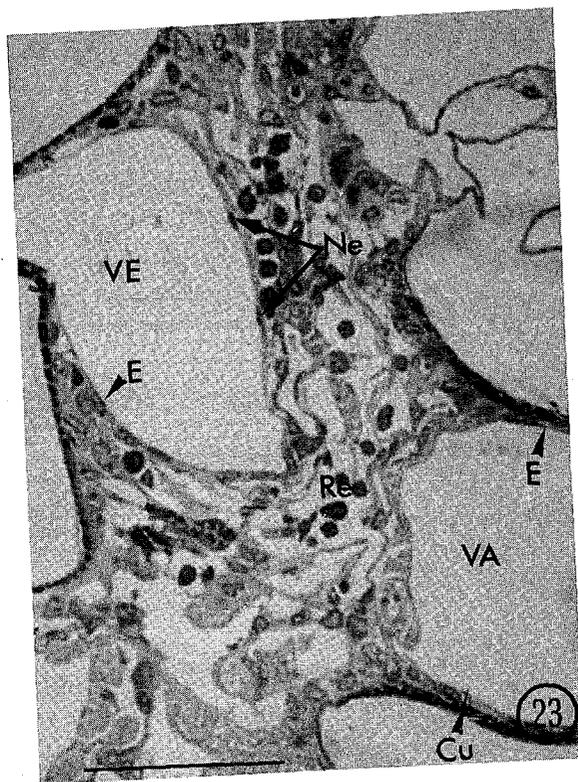
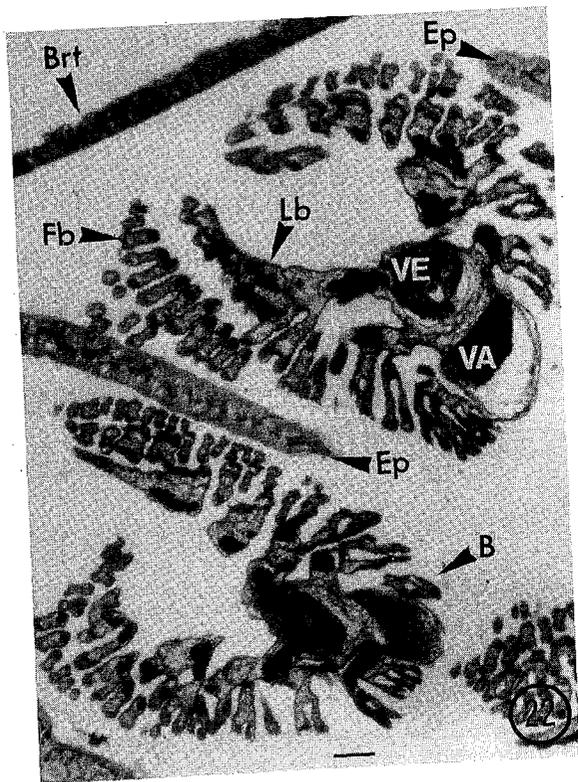
PLANCHE VII

Branchie de *P. japonicus* juvénile

- Fig 22** : Coupe parasagittale au niveau du céphalothorax. Les branchies sont coupées transversalement. On distingue au niveau du raphé le vaisseau afférent et efférent, les lamelles et les filaments branchiaux. Entre les branchies s'intercalent les épipodites.
- Fig 23** : Coupe transversale d'une branchie. Le raphé est constitué par les deux vaisseaux afférent et efférent séparés par un réseau cellulaire. Quelques néphrocytes font face au vaisseau efférent.
- Fig 24** : Filaments branchiaux. Ils sont traversés par un vaisseau afférent et efférent séparés par un septum. A l'autre extrémité se trouve une lacune hémolymphatique distale.
- Fig 25** : Coupe au niveau d'un filament branchial. Les deux faces épithéliales sont reliées par des piliers qui délimitent entre eux des lacunes hémolymphatiques dans lesquelles on observe souvent des hémocytes de 2 types avec (2) ou sans granulations (3).

Abréviations : B : branchie ; Brt : branchiostégite ; Cu : cuticule ; E : épithélium ; Ep : épipodite ; Fb : filament branchial ; He : hémolymphhe ; Hem : hémocyte ; Lad : lacune hémolymphatique distale ; Lb : lamelle branchiale ; Ne : néphrocytes ; Pil : pilier ; Sep : septum ; VA : vaisseau afférent ; VE : vaisseau efférent.

Echelle : Chaque segment correspond à 80 μm pour les fig 22 à 24 et à 5 μm pour la fig 25.



rudiments alors qu'HUDINAGA les qualifie déjà de branchies. Notre opinion diverge de celle de HUDINAGA dans la mesure où nous n'avons pas observé de branchie typique, c'est-à-dire comportant lamelles et filaments branchiaux. La cavité branchiale est largement ouverte chez les mysis 2, le branchiostégite n'étant pas replié vers la face ventrale.

Chez la mysis 3 (fig 26, 27), ces bourgeons augmentent de taille, et après être remontés légèrement au-dessus du coxopodite, semblent se détacher nettement du flanc de l'animal (fig 26). Ces bourgeons sont formés par un épithélium monostratifié régulier, à cellules cubiques, avec noyau arrondi et nucléole très contrasté bordant une lacune hémolympatique (fig 27). La cavité branchiale n'est toujours pas formée (fig 26)

4-4-1-2 Chez les post-larves (fig 28 à 30)

Chez les PL1, les bourgeons nettement plus longs, se sont largement détachés du flanc de l'animal, la lacune hémolympatique plus importante est toujours limitée par des cellules régulières (fig 28, 29) et le branchiostégite en se développant s'est rabattu vers la partie latéro-centrale formant plus ou moins la cavité branchiale (fig 28).

Chez les PL4, l'épithélium branchial a la même structure que chez les mysis 3 et les PL1, à la différence qu'un réseau cellulaire se met en place entre les deux faces épithéliales et qu'à la base de la formation branchiale, l'épithélium commence à former des lamelles (fig 30).

Chez les PL5, l'évolution des branchies est plus avancée. Les lamelles qui étaient auparavant limitées à la base de la branchie, se développent plus ou moins jusqu'à l'apex. Les arthrobranchies les plus anciennes, présentent même les deux vaisseaux. La cavité branchiale est complètement formée par recouvrement latéro-ventral du branchiostégite (fig.50).

Chez les PL 10, les branchies les plus grandes, à ce stade ont 1 mm environ de longueur et ont acquis déjà la morphologie lamellaire de la branchie adulte que nous avons décrite auparavant (fig 52,53). Nous avons également étudié ces organes en microscopie

PLANCHE VIII

Evolution des branchies des larves et post-larves de *P. japonicus*

Fig 26, 27 : Larve Mysis 3. CT au niveau du céphalothorax. Les bourgeons branchiaux se forment à partir du coxopodite de l'appendice.

Fig28, 29 : Post-larve PL 1. CT du céphalothorax au niveau de la chambre branchiale.

Fig 28 : développement des bourgeons branchiaux encore simples.

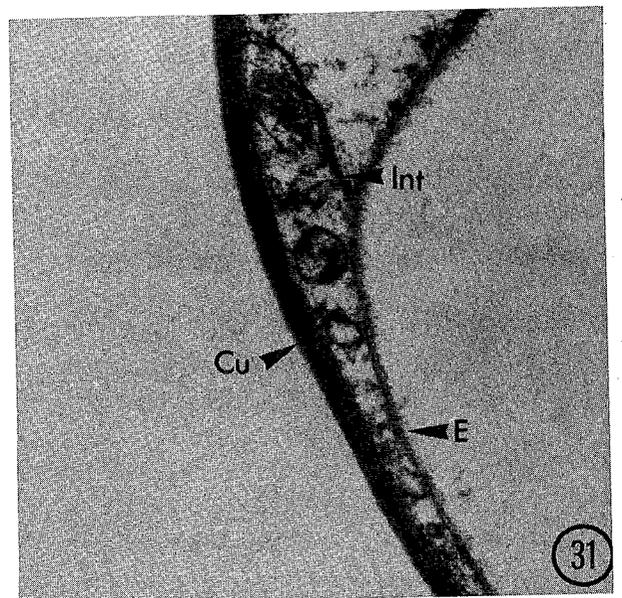
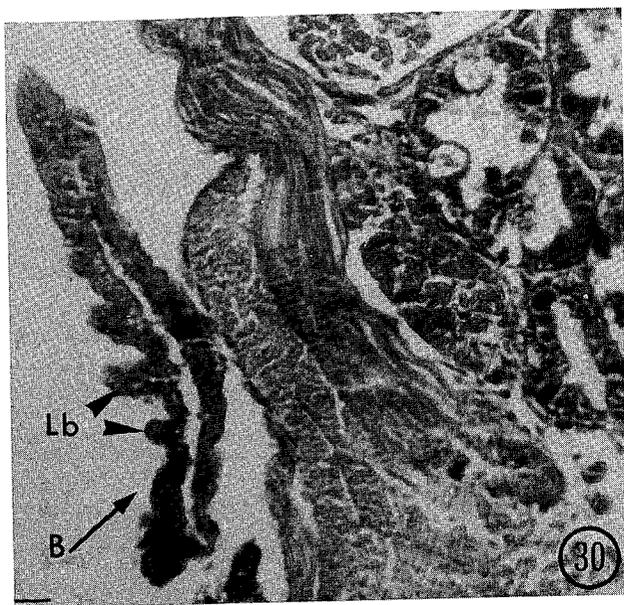
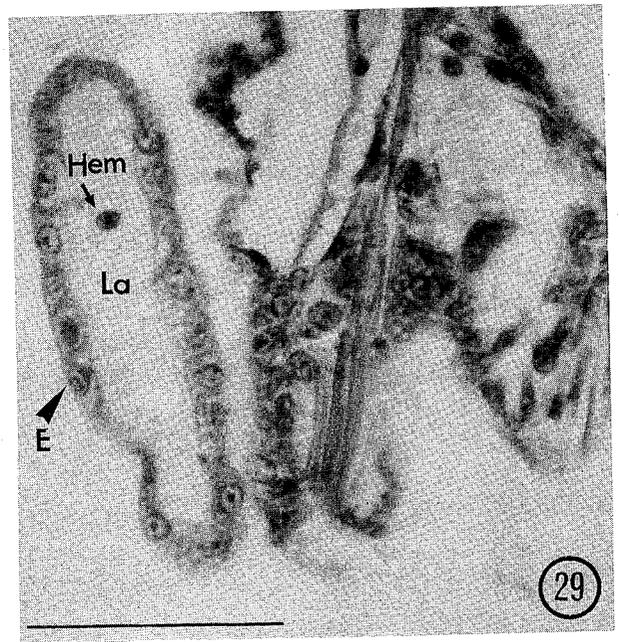
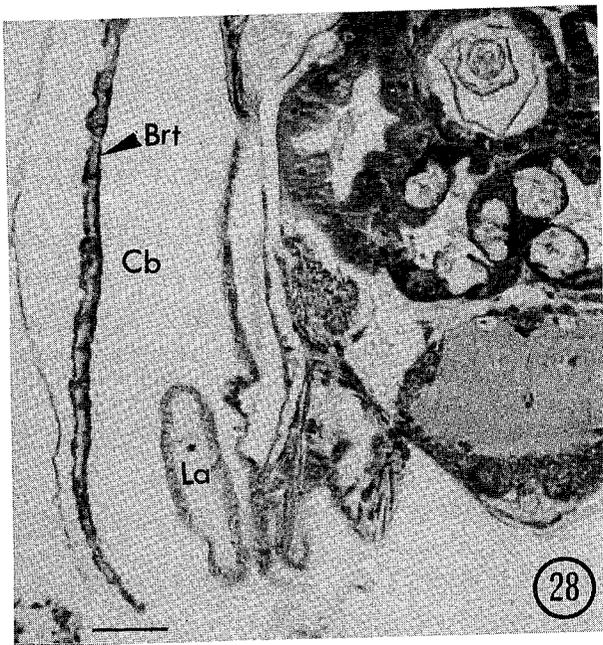
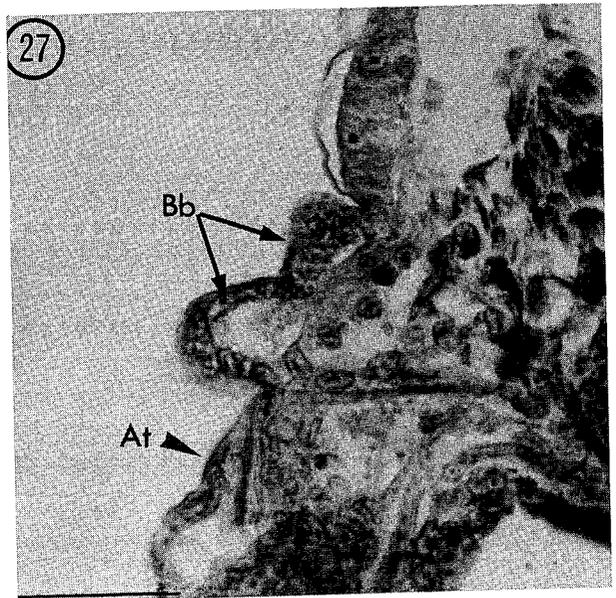
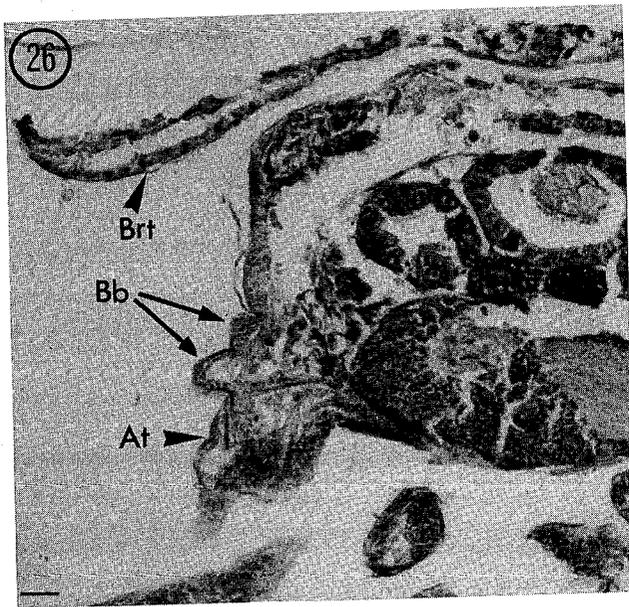
Fig 29 : agrandissement de la photo précédente. Le bourgeon branchial est formé par un épithélium simple entourant une lacune hémolympatique.

Fig 30 : Post-larve PL4 . CT de la chambre branchiale. Les branchies présentent les premières lamelles branchiales latérales.

Fig 31 : Post-larve PL10. CT de l'épithélium branchial : épithélium simple, pauvre en organites intracellulaires. (x 16.000).

Abréviations : At : appendice thoracique ; B : branchie ; Bb : bourgeon branchial ; Brt : branchiostégite ; Cb : cavité branchiale ; Cu : cuticule ; E : épithélium ; Int : interdigitation ; Hem : hémocyte ; La : lacune hémolympatique ; Lb : lamelle branchiale.

Echelle : Chaque segment correspond à 20 μm .



électronique. Leur taille relativement petite nous a permis de réaliser des coupes plus ou moins séries en orientation transversale mais également longitudinale afin d'avoir une exploration maximale. L'épithélium branchial (fig 31) limitant les lamelles est extrêmement mince mesurant 0.1 à 1.7 mm chez un animal en intermue, mais peut s'épaissir considérablement à l'endroit où se trouvent les noyaux qui sont assez rares. La présence d'interdigitations à la partie apicale renforce la cohésion des cellules épithéliales. Aucune particularité histologique ne caractérise cet épithélium qui se révèle être pauvre en organites intracellulaires. Cet épithélium repose sur une lame basale de nature fibreuse (fig.31).

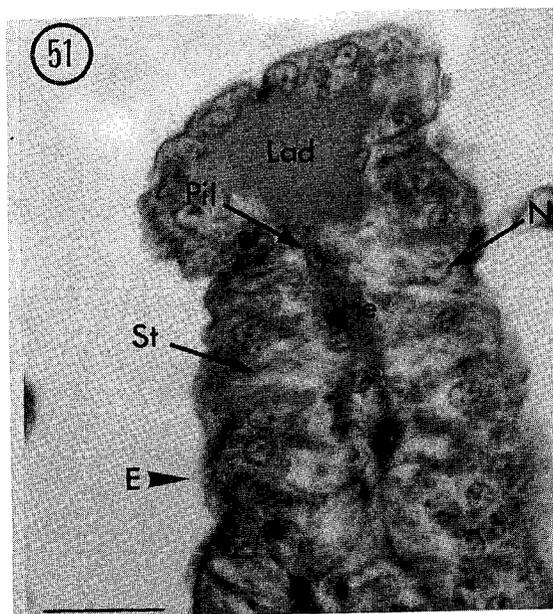
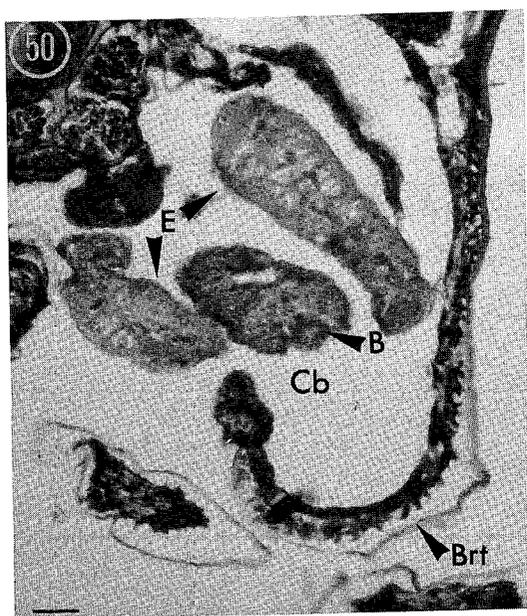
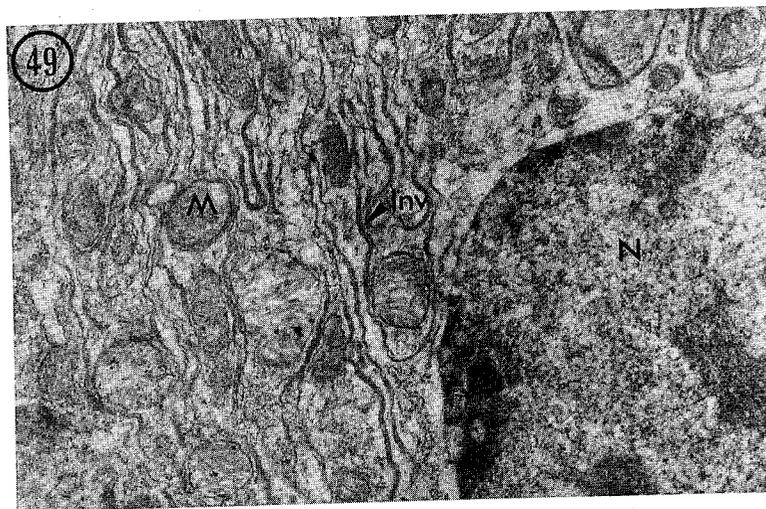
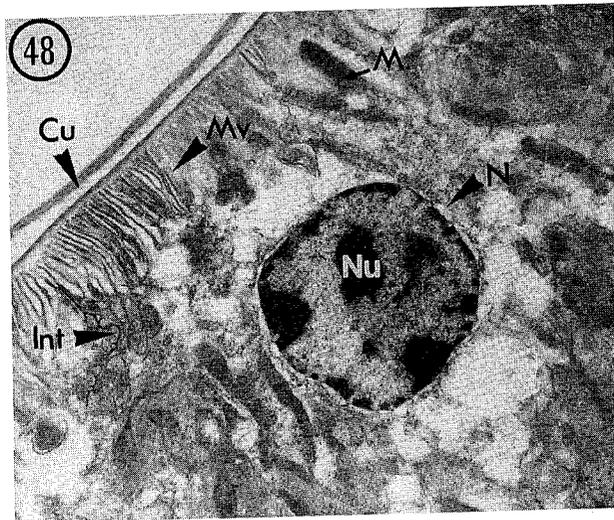
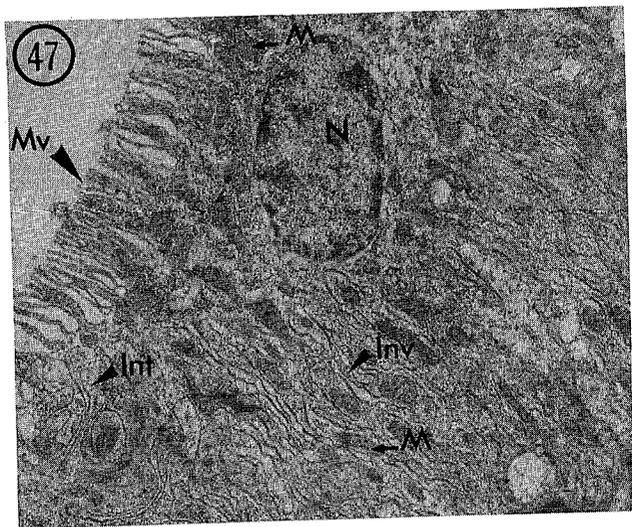
A travers plusieurs observations, nous n'avons relevé que cette catégorie d'épithélium quelle que soit la région branchiale observée.

4-4-1-3 Chez les juvéniles et adultes (fig 32 à 37)

Les coupes pour la microscopie électronique ont été réalisées sur des branchies d'animaux âgés de 3,5 et plus de 6 mois.

Chez les animaux âgés de 3 mois, les cellules épithéliales du raphé branchial entourant les vaisseaux sont cubiques et mesurent 4.3 à 6.4 μm d'épaisseur. Dans les lamelles et filaments (fig 32) l'épithélium représente un mince feuillet de 0.8 μm d'épaisseur ; celui-ci s'épaissit localement soit au niveau des noyaux pour atteindre une épaisseur de 1.4 à 2.2 μm , soit aux extrémités des filaments (1.5 μm) où il y a formation d'une grande lacune distale (fig 33). Les noyaux très rares, sont volumineux, allongés (7 sur 2 μm) parfois en forme de fer à cheval et ont une chromatine déposée en mottes périphériques. Le cytoplasme est pauvre en organites intracellulaires (fig 34), il s'y trouve quelques rares mitochondries dispersées, de forme circulaire (0.4 μm) ou allongées (1 μm) parallèlement à la cuticule. Très sporadiquement, la membrane plasmique apicale émet des microvillosités assez discrètes. La membrane basale est bien visible (fig 34).

Chez les branchies d'animaux âgés de 5 mois ou plus (fig 35, 36, 37), nous avons observé un épithélium toujours mince, mais présentant une différenciation de la membrane plasmique apicale. Celle-ci émet sous la cuticule des microvillosités de dimension variable



allongée, quelques unes ont un aspect étoilé. Certaines mitochondries sont disposées juste à la base des microvillosités (fig 47).

Les noyaux sont de forme ovale (4.6 sur 2.6 μm) ou arrondis (5 μm) avec une chromatine, généralement en mottes refoulées à la périphérie. Certains ont un nucléole très contrasté.

Dans certaines régions du branchiostégite, bien que la partie basale ne présente pas de différenciation, les microvillosités sont toujours présentes au niveau de la face apicale (fig 47,48).

Les digitations intercellulaire latérales sont plus fréquentes chez le branchiostégite des post-larves que chez les larves (fig 47,48). Au sein du cytoplasme on trouve essentiellement des ribosomes libres et des grains de glycogène.

La pleure

A ce stade, les animaux sont trop grands pour être coupés in toto et trop petits pour la dissection. Nous n'avons donc pas observé la pleure des stades post-larvaires. Nous pensons qu'elle a gardé les structures caractéristiques relevées chez les stades larvaires avancés, car l'observation en microscopie photonique révèle la présence de stries.

L'épipodite (fig 50 à53)

En microscopie photonique, on distingue correctement l'épipodite à partir du stade PL4. Il s'agit de structures allongées formées d'un épithélium monostratifié à hautes cellules prismatiques, les noyaux arrondis à nucléole très contrasté, situé près de la surface apicale se trouvent dans les zones claires alors que le reste de la cellule est beaucoup plus contrasté avec un aspect strié. Les deux faces épithéliales sont séparées par un réseau vasculaire lacuneux. L'extrémité libre de l'épipodite est occupé par une volumineuse lacune hémolympatique (fig 50,51). De place en place, deux cellules opposées de l'épithélium viennent en contact et forment des piliers traversant la lame épipodiale d'une cuticule à l'autre (Fig 51).

Chez le stade PL10, l'épipodite a la même structure sauf que l'espace occupé par les lacunes hémolympatiques est plus réduit (fig 52,53).

PLANCHE XIV

Fig 52,53 : Stade post-larvaire PL 10 de *P. japonicus*. CT faite au niveau du céphalothorax.

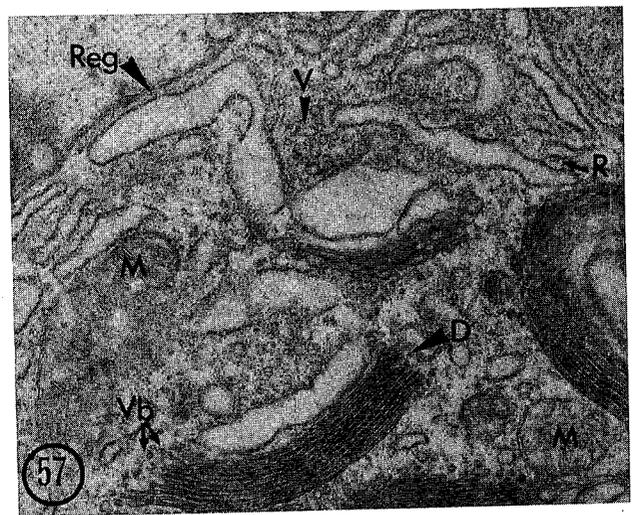
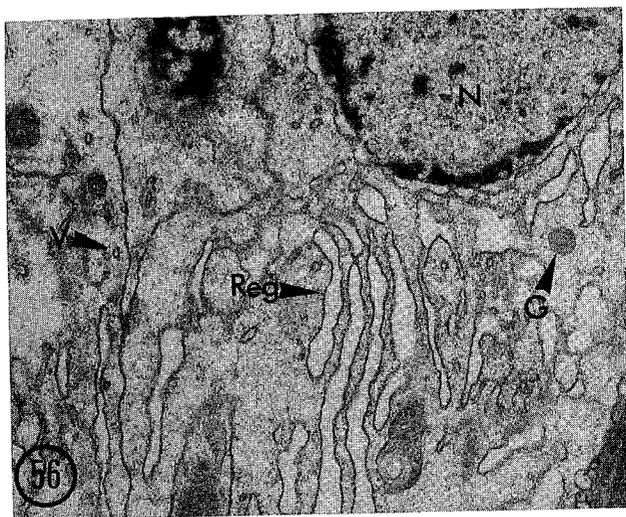
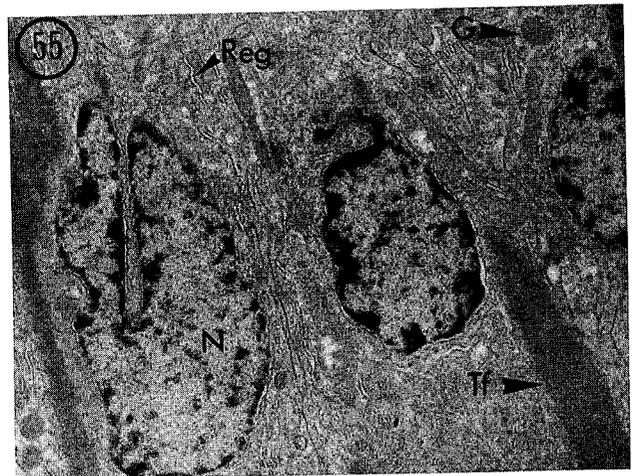
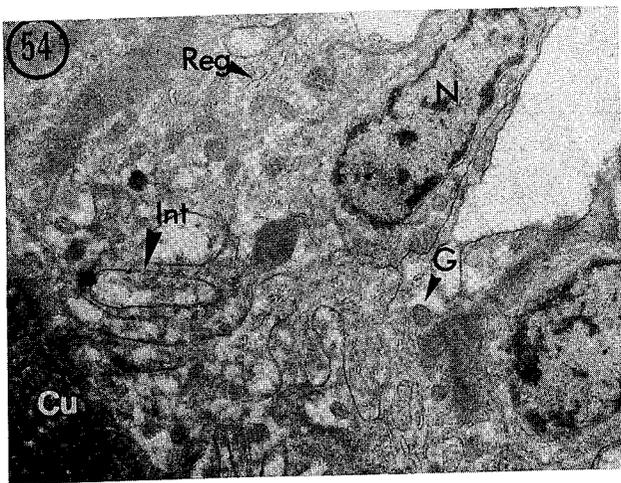
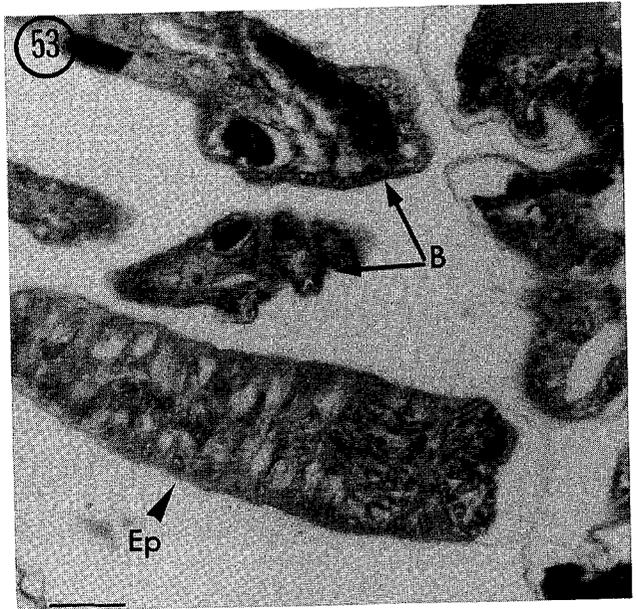
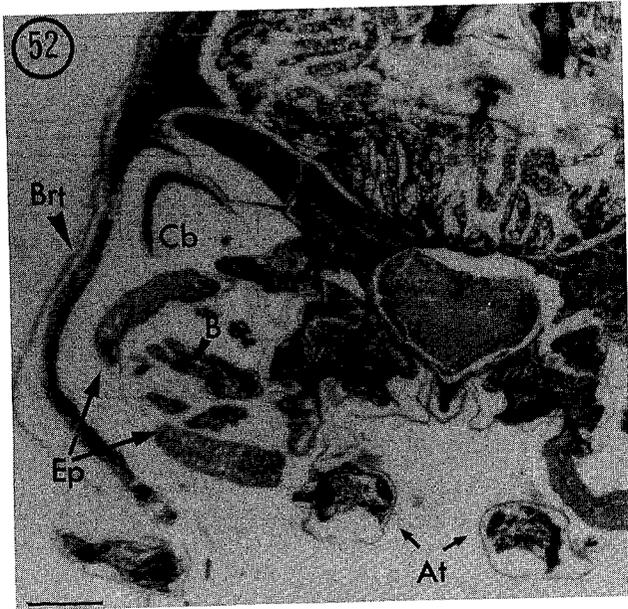
Fig 52 : vue générale de la chambre branchiale .

Fig 53 : agrandissement de la photo précédente. Par rapport aux stades précédents (fig 50), les branchies sont plus développées, l'épipodite présente une structure moins lacunaire.

Fig 54 à 57: Branchiostégite de *P. japonicus* adulte. L'épithélium est caractérisé par d'importantes interdigitations apicales, profondes et sinueuses. Les noyaux sont nombreux et polymorphes. Le cytoplasme est très riche en Reg, dictysomes, vésicules, granules cytoplasmiques et travées fibrillaires (x 6200, x 10 000, x 11 500, et x 13 700).

Abréviations : At : appendice thoracique ; B : branchie ; Cb : cavité branchiale ; Cu : cuticule ; D : dictysome ; Ep : épipodite ; G : granule cytoplasmique ; Int : interdigitation ; M : mitochondrie ; N : noyau ; Reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Ri : ribosome ; Tf : travée fibrillaire ; V : vésicule ; Vb : vésicule de bourgeonnement.

Echelle : Chaque segment correspond à 160 μm pour Fig 51 et à 16 μm pour Fig 52.



4-4-2-3 Chez l'adulte

Le branchiostégite (fig 54 à 57)

De très nombreuses sections ont été réalisées au niveau du branchiostégite adulte. Nous n'avons jamais pu observer le même épithélium différencié que celui que nous avons rencontré chez les larves et les post-larves. L'épithélium du branchiostégite chez l'adulte de *P. japonicus* montre les caractéristiques suivantes :

- * Les cellules sont hautes à noyau central. Au pôle apical, les membranes cellulaires présentent de nombreuses interdigitations très prononcées et sinueuses (fig 54)

- * La présence de très nombreuses fibres , très serrées et allongées formant des sortes de travées allongées dans le même sens que la cellule. Entre ces fibres, se logent les noyaux à chromatine, soit en mottes, soit dispersée dans le nucléoplasme . Les noyaux sont tous situés au même niveau et ont une diversité de forme étonnante (fig 55); arrondis, allongés, bilobés, multilobés, en croissant, en demi cercle, leur taille est importante (2.6 sur 1.8 jusqu'à 5.4 sur 2.3 μm).

- * Un important Reg formé de tubules allongés et dilatés pouvant avoir plus de 3,6 μm de longueur. Ce réticulum peut se trouver aussi bien dans la région périnucléaire (fig 56) que dans les autres régions du cytoplasme.

Dans le cytoplasme, se trouvent aussi des mitochondries allongées en quantité moyenne de 1.2 sur 0.4 μm jusqu'à 2.5 sur 0.4 μm de dimension. On remarque aussi de nombreuses petites vésicules claires (fig 56,57), des granules cytoplasmiques denses aux électrons de diamètres important (0,3 μm) (fig 55), des ribosomes libres, des grains de glycogène. De volumineux dictyosomes très réguliers sont visibles (fig 57); le nombre de saccules est important et des vésicules de bourgeonnement se détachent de leurs extrémités.

La pleure

Malgré les nombreuses sections effectuées à différents niveaux, nous n'avons pas observé d'épithélium particulier. L'épithélium pleural chez l'adulte est un épithélium non

PLANCHE XV

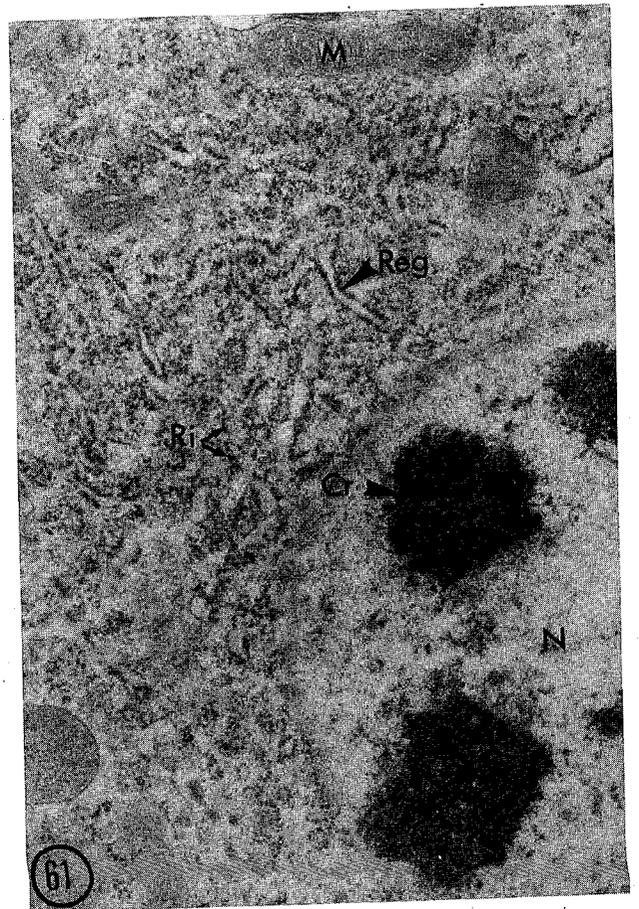
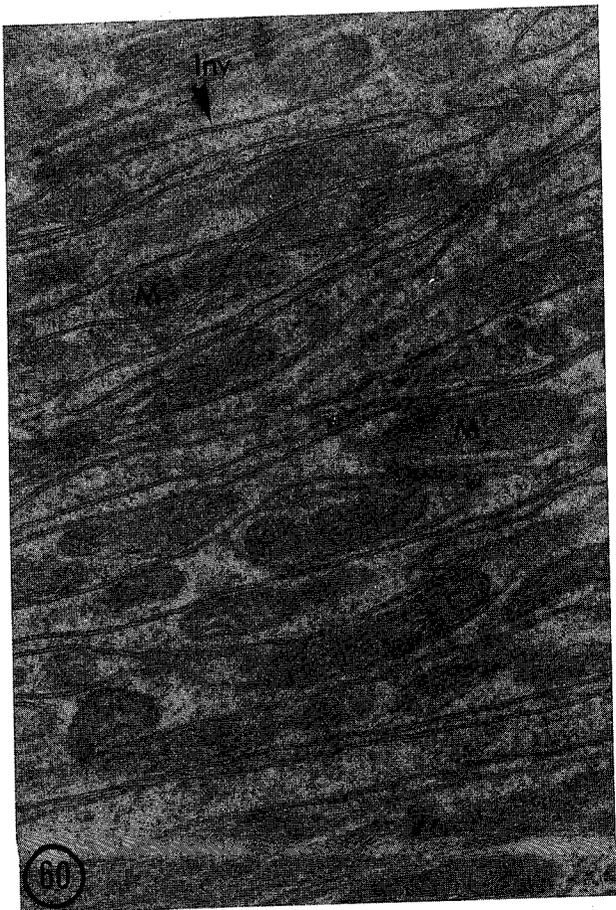
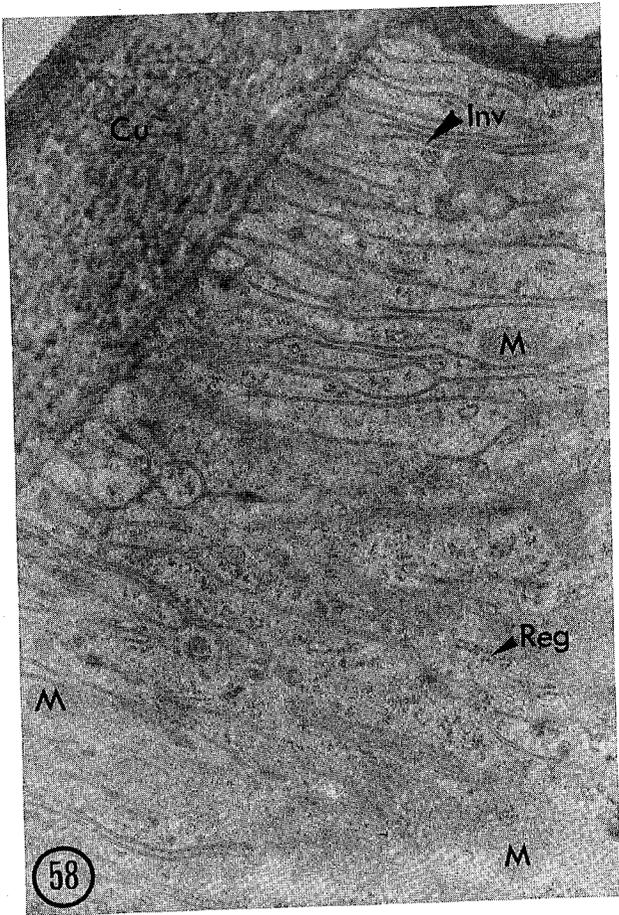
Epipodite de *P. japonicus* adulte .

Fig 58, 59: L'épithélium de l'épipodite de l'adulte est hautement différencié. De profondes invaginations associées à des mitochondries sont présentes dans la zone apicale (Fig 58) et la zone basale (Fig 59) (x 16 400 et 28 000)

Fig 60 : Détail sur l'association mitochondries / invaginations (x 16 400).

Fig 61 : Zone périnucléaire riche en Reg et ribosomes.

Abréviations : Ch : chromatine, Cu : cuticule ; Inv : invaginations ; Lb : lame basale ; M : mitochondrie ; N : noyau ; Reg : réticulum endoplasmique granulaire ; Ri : ribosome



différencié. Les cellules dont les limites cellulaires sont mal définies sont plus ou moins aplaties. Les noyaux sont allongés et le cytoplasme contient quelques mitochondries allongés, des ribosomes libres, et une quantité moyenne de Reg.

L'épipodite (fig 58 à 61)

Nous l'avons observé chez les animaux âgés de 5 mois et chez les adultes. Nous avons relevé les mêmes structures.

D'emblée, l'observateur est frappé par la haute différenciation des cellules épithéliales de l'épipodite; celles-ci sont très riches en invaginations apicales et basales qui dans certaines régions sont très proches et parallèles les unes aux autres. Au niveau apical, elles ont une longueur de 1.3 jusqu'à 6 μm , orientées perpendiculairement par rapport à la cuticule, elles s'enfoncent vers l'intérieur du cytoplasme en renfermant entre elles une quantité modérée de mitochondries (fig 58). Au niveau basal, ces formations sont plus spectaculaires. La membrane cellulaire s'invagine dans le cytoplasme formant un système de doubles membranes (fig 59,60), l'espace intermembranaire de ces doubles membranes communique avec l'espace extracellulaire du côté basal de l'épithélium (fig 59). Les invaginations ont une largeur de 20 nm. Extrêmement nombreuses, existant sur toute la base de la cellule, très serrées entre elles, elles s'enfoncent très profondément dans le cytoplasme en direction apicale et peuvent mesurer plus de 20 μm de longueur. Elles renferment entre elles un nombre très élevé de mitochondries, très allongées dans la plupart des cas (2.5 sur 0.3 μm) et formant des paquets de mitochondriaux assez impressionnants. Les mitochondries contiennent un très grand nombre de crêtes lamellaires orientées transversalement dans la matrice à forte densité électronique. Les cellules de l'épithélium de l'épipodite se caractérisent également par une grande richesse en Reg, en ribosomes libres, surtout dans la zone périnucléaire (fig 61), en grains de glycogène. Entre les invaginations, le Reg est très allongé mesurant entre 0.4 et 1 μm . Les noyaux de densité moyenne, situés sur le même niveau sont généralement arrondis ou allongés (8 sur 4 ; 6 sur 3 ; 7 sur 5 μm) ; au sein du nucléoplasme, la chromatine est répartie en mottes périphériques ou en mottes clairsemées.

La lame basale très fibreuse est difficilement observable. (fig 59).

A certains endroits, les cellules épithéliales des deux faces s'unissent et forment un pilier. A ce niveau, des faisceaux fibrillaires traversent les cellules et viennent s'ancrer sur

la cuticule.

Des coupes réalisées à la base des épipodites, au niveau du pédoncule d'attache ont montré des cellules épithéliales différentes. De forme trapézoïdale, elles présentent un bord basal profondément dentelé. Sporadiquement existent de petites microvillosités apicales délimitant entre elles des espaces sous cuticulaires. A ce niveau, se trouvent également un très grand nombre d'interdigitations très sinueuses et renfermant dans leurs contours du Reg. Les noyaux sont de taille et forme variables. Les mitochondries et Reg sont répartis uniformément au sein du cytoplasme. Nous avons noté également la présence de travées formées de fibres très serrées et allongées perpendiculairement à la surface apicale, par contre, nous n'avons pas observé d'invaginations basales.

4-5 DISCUSSION ET CONCLUSION

4-5-1 Les branchies

Les branchies apparaissent sous forme de bourgeons au stade mysis 1 mais ne présentent une structure branchiale nette qu'à partir des stades post-larvaires.

Chez la post-larve PL10 de *P. japonicus*, nous n'avons observé qu'un seul type d'épithélium branchial ; très mince, contenant quelques rares noyaux allongés et presque pas d'organites intracellulaires sinon quelques mitochondries, cet épithélium ne présente ni différenciation apicale ni basale. Bien qu'il n'existe pas à notre connaissance dans la bibliographie des études portant sur les branchies de larves et post-larves de Crustacés, nous pensons que cet épithélium fin doit être plus particulièrement impliqué dans les échanges gazeux, car avec une épaisseur de l'ordre de 0.1 à 1.7 μm , l'oxygène peut être absorbé par simple diffusion. Un épithélium de ce genre a été décrit chez les adultes de *Callinectes sapidus* (COPELAND et FITZJARREL, 1968) et de *Ocypode ceratophthalma* (STORCH et WELSH, 1975).

Chez les branchies d'animaux âgés de 3 mois, nous avons rarement observé des microvillosités à la surface apicale ; par contre celle-ci deviennent plus fréquentes chez les branchies d'animaux âgés de 5 mois et chez les adultes. Chez les stades âgés, le cytoplasme reste tout aussi pauvre en organites intracellulaires, mais devient plus riche en

mitochondries allongées et disposées sous les microvillosités. Des résultats similaires ont été trouvés chez *Penaeus aztecus* (FOSTER et HOWSE, 1978), au niveau des branchies postérieures de *Eriocheir sinensis* (BARRA et al, 1983), et chez *Gecarcinus cruentata* (MARTELO et ZANDERS, 1986). Ces auteurs supposent l'intervention de cet épithélium dans l'osmorégulation puisque dans des salinités aussi basses que 0,9 ‰ et aussi élevées que 59 ‰, la membrane plasmique apicale des branchies de *Penaeus aztecus* devient plus fortement invaginée.

Mais dans la majorité des cas, la comparaison avec d'autres espèces montre que l'épithélium branchial de *P. japonicus* est faiblement différencié. En effet les "branchies" d'*Artemia salina* (COPELAND, 1967), de *Gecarcinus lateralis* (COPELAND, 1968), de *Callinectes sapidus* (COPELAND et FITZJARREL, 1968), d'*Astacus leptodactylus* (BIELAWSKI, 1971), d'*Astacus pallipes* (FISHER, 1972), de *Gecarcinus oceanicus* (MILNE et ELLIS, 1973), de *Procambarus clarkii* (BURGRREN et al, 1974), de *Jaera nordmanni* (BUBEL et JONE, 1974 ; BUBEL, 1976), d'*Asellus aquaticus* (BABULA, 1979), d'*Holthuisana transversa* (TAYLOR et GREENAWAY, 1979), d'*Eriocheir sinensis*, (BARRA et al, 1983), de *Uca mordax* (FINOL et CROGHAN, 1983), et *Crangon crangon* (PAPATHANASSIOU; 1985) sont caractérisées par la présence de microvillosités apicales et par une grande densité en invaginations latérobasales associées dans la majorité des cas à un grand nombre de mitochondries. Ces caractéristiques ultrastructurales sont typiques de tissus engagés dans les transports ioniques actifs (BERRIDGE et OSCHMAN, 1972).

D'après nos résultats, nous n'avons pas noté de différence morphologique et ultrastructurale entre branchies antérieures, médianes et postérieures de *P. japonicus*, et au sein d'une même branchie, l'épithélium moyennement différencié que nous avons décrit chez les juvéniles et adultes est réparti d'une manière homogène. Nous pouvons donc conclure à l'existence d'un type unique d'épithélium comme pour *P. aztaeus* (FOSTER et HOWSE, 1978), qui peut être impliqué dans l'osmorégulation mais également dans les échanges gazeux. Cette situation se retrouve chez le crabe *H. transversa* (TAYLOR et GREENAWAY, 1979), chez lequel il n'y qu'un seul type d'épithélium d'une épaisseur de 2.5 µm qui recouvre entièrement toutes les lamelles branchiales, y compris le canal marginal et qui serait impliqué dans les deux fonctions. Chez d'autres espèces, par contre, existe une nette séparation topographique entre deux types d'épithéliums. Ainsi, chez

E.sinensis (BARRA *et al*,1983), l'épithélium des branchies antérieures est très fin (2 - 4 μm), une telle minceur favorise sans aucun doute le passage de l'oxygène de l'extérieur vers l'hémolymphe et seule la face apicale présente des microvillosités. Par contre, l'épithélium des branchies postérieures est beaucoup plus épais, jusqu'à 10 μm . Celui-ci, en plus de la différenciation apicale, présente des invaginations basales très développées associées à de nombreuses mitochondries. Les auteurs pensent que la fonction essentielle du premier tissu est la respiration, alors que le second serait impliqué dans l'osmorégulation. Cette dernière hypothèse est en parfait accord avec les données physiologiques puisque seules les branchies postérieures sont impliquées dans la régulation osmotique et ionique (SCHOFFENIELS et GILLES, 1970 ; PEQUEUX et GILLES, 1981, 1988). La littérature rapporte d'autres exemples de cette séparation topographique. Chez *A. pallipes* et *A. leptodactylus* (DUNEL-ERB *et al*,1982) existent deux types bien tranchés d'épithélium. Dans les filaments branchiaux, un épithélium mince borde les lacunes qui s'interposent entre canaux afférents et efférents constituant une interface de 1 à 2 μm entre l'eau et l'hémolymphe, par conséquent favorable aux échanges gazeux. Dans la lame podobranchiale (lame fixée uniquement aux podobranchies), l'épithélium nettement plus épais (5 à 10 μm) est constitué de cellules dont les caractères ultrastructuraux suggèrent l'intervention dans les processus d'échanges ioniques. Ces observations sont pour ces auteurs, le critère d'une répartition topographique des échanges branchiaux : les filaments étant mieux adaptés pour les échanges gazeux et les lames plus spécialement équipées pour les transports ioniques, pourtant, ils n'excluent pas pour l'un et pour l'autre une participation à l'ensemble des échanges, mais à des degrés différents. Cette notion de séparation fonctionnelle en rapport étroit avec une différence structurale a aussi été mise en évidence chez les Isopodes au niveau des pléopodes qui représentent les organes respiratoires de ces animaux ; chez *Asellus aquaticus*, les exopodites jouent le rôle d'organes respiratoires, alors que les endopodites participent à l'osmorégulation (BABULA, 1979).

Enfin, le dernier cas de figure se rapporte à une séparation plus restreinte, c'est-à-dire qu'au sein d'une même branchie, existent des différences structurales. COPELAND et FITZJARREL (1968) ont bien montré chez le crabe *Gecarcinus lateralis*, l'existence de deux épithéliums distincts dans la lame branchiale ; l'un mince plus particulièrement impliqué dans les échanges gazeux, et l'autre épais dans les échanges ioniques. Ceci est renforcé par l'hypertrophie très marquée des zones constituées par cet épithélium épais lors

également tapisser entièrement l'axe dorso-ventral de la pleure comme il peut être restreint à de petites surfaces.

Ces tissus sont caractérisés par la différenciation de la membrane apicale en microvillosités et surtout celle des membranes basales et latérales en invaginations profondes associées étroitement avec de véritables paquets mitochondriaux, ces derniers sont peut-être plus importants dans le branchiostégite. Cette configuration a été appelée antérieurement "pompes mitochondriales" par COPELAND (1964 b) et se trouve particulièrement dans les branchies de Brachyours tel que *G.lateralis* (COPELAND, 1968) et *C. sapidus* (COPELAND et FITZJARREL, 1968). Ces tissus localisés au niveau de la surface interne de la chambre branchiale ont été décrits chez les larves et post-larves de *Penaeus aztecus* (TALBOT *et al*, 1972) et chez les deux stades larvaires zoé de *Callinassa jamaicensis* (FELDER *et al*, 1986). Leurs caractères ultrastructuraux sont similaires à ceux de *P. japonicus*. Mais, alors que TALBOT *et al* (1972) ont rapporté la présence de tels tissus uniquement au niveau des régions antérieure et moyenne du céphalothorax chez les larves de *P. aztecus*, nous avons observé aussi chez *P. japonicus* un épithélium pleural plus ou moins différencié au niveau de la région postérieure du céphalothorax.

Chez les larves de *P. japonicus*, nous avons observé des piliers reliant les deux faces du branchiostégite qui peuvent être des éléments stabilisateurs permettant de garder les deux épithéliums opposés à une distance quelque peu constante. Ces piliers sont décrits par FELDER *et al* (1986) chez les larves de *C. jamaicensis* alors que TALBOT *et al* (1972) ne rapportent pas leur présence chez *P. aztecus*. Ces auteurs notent par contre que les microvillosités apicales semblent former quelques fois des vésicules de pinocytose, alors que nous ne les avons pas observé chez les larves et les post-larves de *P. japonicus*. Nous avons relevé chez ces stades la présence d'une lame basale de nature fibreuse à peine visible à des forts grossissements. TALBOT *et al* (1972) l'ont également signalée alors que FELDER *et al* (1986) n'ont pu la détecter bien qu'ils n'excluent pas l'existence d'une telle lame qui aurait pu, parce que délicate, être altérée durant la préparation ; l'absence de la lame basale a été rapportée par CONTE *et al* (1972) chez la glande dorsale du nauplius d'*Artemia salina*.

Chez l'adulte, toutes nos nombreuses observations effectuées à différents niveaux du céphalothorax semblent montrer que la différenciation du branchiostégite et de la pleure

disparaît. L'épithélium du branchiostège est plus épais que celui observé chez les larves et post-larves, la membrane apicale est caractérisée par de nombreuses interdigitations, la membrane basale est simple. Le cytoplasme renferme les différents organites intracellulaires en quantité importante, la quantité en mitochondries est par contre plus modérée.

L'épithélium pleural est un épithélium mince, simple, pauvre en noyaux et en organites. Il semble plausible de tenir le raisonnement suivant. On peut supposer que les bords de la cavité branchiale, branchiostège et pleure assument un rôle osmorégulateur chez les jeunes stades de *P. japonicus* avant que les structures adultes se mettent en place et prennent en charge cette fonction. Par la suite, le tissu bordant intérieurement la chambre branchiale perd ses caractéristiques ultrastructurales et son rôle diminue sinon s'annule (voir chapitre VI). Ceci explique aussi pourquoi il n'a pas été identifié antérieurement comme tissu osmorégulateur chez les Crustacés âgés. L'absence de structures typiques chez le branchiostège et la pleure de *P. japonicus* adulte serait due à leur dégénérescence au cours du développement de l'espèce au profit de la mise en place d'autres structures. Une situation plus ou moins comparable se produit chez *A. salina*. Ce Branchiopode, possédant osmorégulateur dès l'éclosion, possède chez le stade nauplius une glande dorsale dont l'ultrastructure est typique des tissus osmorégulateurs. Cette glande dégénère au moment où les "branchies" se développent (DEJDAR, 1930), alors qu'elle avait indiscutablement un rôle osmorégulateur (HOOTMAN et CONTE, 1975). En plus de la disparition des microvillosités, l'extrême richesse du branchiostège adulte de *P. japonicus*, en Reg, ribosomes et même appareil de Golgi et la réduction des mitochondries nous font penser que ce tissu assumerait chez l'adulte d'autres fonctions plutôt que celle d'osmorégulation.

4-5-2-2 L'épipoïde

Les 2 premiers épipoïdes apparaissent chez le stade larvaire mysis 2. Ce chiffre passe à 5 au stade post-larvaire PL6 et le nombre complet de 6 est atteint au stade PL11 (HUDINAGA, 1942).

Les épipoïdes se forment par bourgeonnement de l'épithélium du coxopodite des appendices thoraciques. Dès le moment où l'on a pu les observer en microscopie photonique chez les premières post-larves (PL4), nous avons remarqué que leurs cellules

épithéliales sont prismatiques et striées.

Chez les juvéniles et adultes, la microscopie électronique nous a révélé que parmi tous les tissus épithéliaux étudiés (branchies, branchiostégite, pleure), l'épithode est la structure la plus hautement différenciée. C'est de plus le tissu épithélial le plus épais (plus de 20 µm d'épaisseur). Le cytoplasme est traversé de part et d'autre par un réseau très dense d'invasions apicales et basales qui donnaient déjà chez les jeunes stades la striation observée en microscopie photonique. Les mitochondries excessivement nombreuses s'arrangent en paquets rappelant ici aussi la configuration de "pompes mitochondriales" de COPELAND. Cette différenciation affecte toute la surface cellulaire et l'interruption des invasions n'est qu'exceptionnelle.

Les études portant sur l'épithode d'autres espèces restent très limitées et plus ou moins sommaires. La plus ancienne est à notre connaissance celle de BUCHANAN (1889). Voici ce qu'elle dit à son sujet : "les épithodes se trouvent près de la base de l'appendice thoracique (où naissent les podobranchies) et ont un rôle dominant sur tous les segments thoraciques. Chez *Penaus*, ils jouent probablement la fonction de nettoyage des branchies, mais chez les formes évoluées (*Homarus*, *Asiacus*), cette fonction est reléguée à une portion spéciale attachée au coxopode de l'appendice et l'épithode est transformée en une large lamelle qui sert à séparer les branchies pour éviter leur enchevêtrement. Dans la majorité des cas, comme chez *Homarus*, la podobranchie demeure tout-à-fait distincte de l'épithode, mais dans le cas d'*Asiacus* et quelques formes qui lui sont proches, c'est-à-dire qui naissent uniquement lorsqu'elles ont atteint un développement complet, la podobranchie existe comme une touffe sur l'épithode".

HUDINAGA (1942) a fait une étude très sommaire sur les épithodes de *P. japonicus* puisqu'elle ne porte que sur leur aspect morphologique. Cet auteur leur a attribué un autre qualificatif en les dénommant "mastigobranchies". En effet, il s'agit pour lui de structures branchiales et il les inclue dans la formule branchiale de *P. japonicus*.

L'étude de DEBAISIEUX (1970) sur *Crangon vulgaris*, est également très sommaire au sujet de ces structures. Cet auteur dénombre 3 épithodes vers la partie antérieure du céphalothorax. Par son aspect général, l'une parmi les 3 est comparable au raphé d'une branchie qui n'aurait pas développé de lamelles. Sur le plan histologique limitée

uniquement à la microscopie optique, il signale uniquement un épithélium épais à basale plus ou moins arquée.

L'étude de DUNNEL-ERB *et al* (1982) sur *A. pallipes* et *A. leptodactylus* est par contre plus complète sur des structures que nous supposons être les épipodites bien que nous ne pouvons pas nous empêcher de nous étonner sur le qualificatif utilisé par les auteurs "lame contournée accolée à la face postérieure des podobranchies" plutôt que celui "d'épipodites". Des désaccords existent entre certains auteurs quant à cette lame chez les Astacides. C'est ainsi que pour FISHER (1972) la lame podobranchiale (il l'a qualifiée lui aussi ainsi, aurait pour seule fonction de diriger les courants d'eau dans la cavité branchiale alors que BOCK (1925) la décrirait déjà comme une structure vasculaire capable de former une grande surface d'échange. Sur le plan ultrastructural, ces lames sont identiques aux épipodites de *P. japonicus* avec une importante différenciation des deux membranes plasmiques apicale et basale.

Du point de vue phylogénétique, les épipodites et les branchies ont une origine commune (MILL, 1972). Chez les Crustacés primitifs tels que les Euphosiacés, les branchies sont représentées par les épipodites eux-mêmes. Chez ces animaux, les épipodites sont habituellement découpés en branches (ce qui rappelle la structure lamellaire branchiale) et fonctionnent comme des branchies. Chez les Mysidacés, les branchies, quand elles sont présentes, dérivent des épipodites. Chez les Décapodes, les podobranchies sont formées à partir des épipodites. Chez *P. japonicus*, la podobranchie et l'épipodite ont le même point d'attache sur le coxopodite du 2ème maxillipède (cette présente étude), et leur ultrastructure présente des similitudes. Ainsi, leur origine commune, leurs ressemblances topographiques et histologiques, leurs caractéristiques typiques de tissus transporteurs d'ions sont autant d'arguments de l'intervention des épipodites, comme des branchies dans les mécanismes d'osmorégulation.

En conclusion générale, l'étude ultrastructurale des épithéliums du branchiostégite, de la pleure, des branchies et des épipodites, quand ils sont différenciés, montre les mêmes adaptations morphologiques spécifiques de tissus impliqués dans les transports ioniques et donc leur intervention dans l'osmorégulation (PEASE, 1956; BERRIDGE et OSCHMAN, 1972). La principale caractéristique de cette adaptation est la grande augmentation de la

surface cellulaire due à la présence de microvillosités apicales et d'invasions basales (sauf pour les branchies) formant un réseau de membranes extrêmement denses et étroitement associées à de très nombreuses mitochondries. Le nombre important des crêtes de ces organites indique leur haut degré métabolique et l'énergie fournie sert aux transports ioniques (COPELAND et FITZJARREL, 1968). De même, les digitations intercellulaires communes aux épithéliums transporteurs d'ions chez les invertébrés, sont localisées du côté de la face apicale. Nous les avons observés également chez *P. japonicus*. Ce type d'adaptation avec quelques modifications se rencontre dans les épithéliums des organes spécialisés dans le transport ionique de différents groupes systématiques du règne animal : tubules contournés des reins (SJOSTRAND et RHODIN, 1953, PEASE, 1955) ; tubules malpighiens des Insectes (BEAMS *et al.*, 1955 ; SMITH et LITTAU, 1960 ; TSUBO et BRANDT, 1962 ; COONS et AXTELL, 1971), les organes excréteurs des Crustacés (BEAMS *et al.*, 1956 ; MIYAWAKI et UKESHIMA, 1967 ; SCHMIDT-NIELSEN *et al.*, 1968), les glandes nasales des Oiseaux (DOYLE, 1960), en particulier la glande à sel du canard (KOMNICK, 1963 ; ERNST et ELLIS, 1969), la glande rectale du chien de mer (BULGER, 1963), les papilles rectales des Insectes (COPELAND, 1964 b) ; BERRIDGE et GUPTA, 1967 ; OSCHMAN et WALL, 1969). Une liste partielle de distribution de tissus similaires ultrastructuralement chez les Crustacés inclue l'intestin moyen des Isopodes (HOLDICH et RATCLIFFE, 1970), les organes excréteurs de l'écrevisse (BEAMS *et al.*, 1956), de *Uca mordax* (SCHMIDT-NIELSEN *et al.*, 1968), d'*Artemia salina* (TYSON, 1969), et comme nous l'avons déjà cité les branchies des Brachyours (COPELAND, 1967, 1968 ; COPELAND et FITZJARREL, 1968).

La mise en place des structures osmorégulatrices adultes est progressive au cours du développement post-embryonnaire de *P. japonicus* (fig 62).

L'apparition de ces structures peut-elle être reliée à des modifications de la physiologie de la crevette, en particulier à des changements des capacités osmorégulatrices ? Cette question sera traitée dans les chapitres suivants et dans la discussion générale.

Remarque : compte-tenu de leurs caractères ultrastructuraux typiques des tissus transporteurs d'ions, nous appellerons désormais l'épithélium du branchiostégite et de la pleure : tissus osmorégulateurs, les branchies et les épipodites : organes osmorégulateurs, et nous les regrouperons sous le terme de : structures osmorégulatrices.

TABEAU 4 : Ontogénèse des structures osmorégulatrices

TO : tissus osmorégulateurs : épithélium du branchiostégite et de la pleure.
 OO : organes osmorégulateurs : branchies et épipodites.
 SO : structures osmorégulatrices : ensemble de TO + OO.

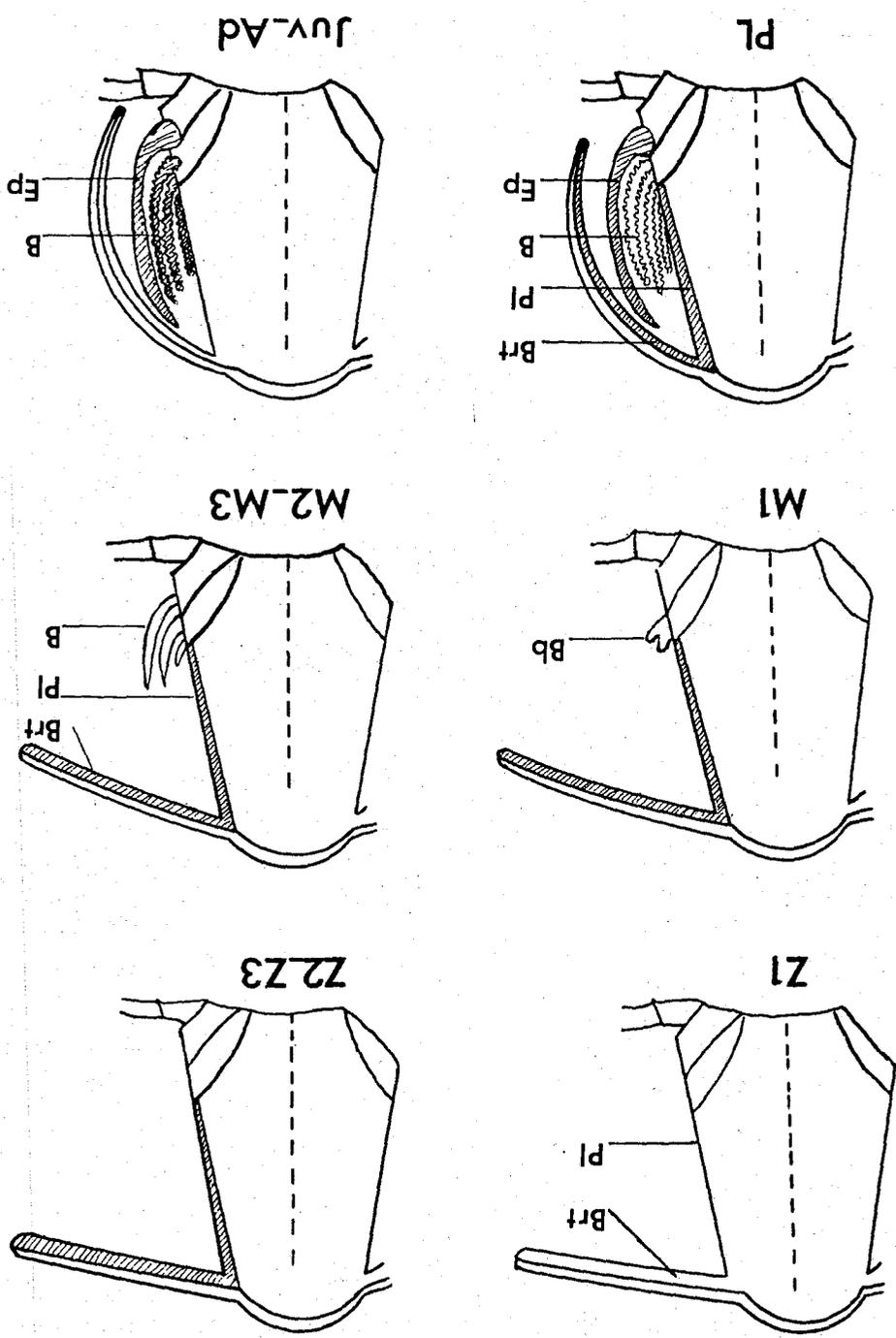
STADE	Nauplius - zoé 1		Zoé 2		Mysis 1		Mysis 2		Mysis 3		Post-larves		Juvéniles		Adultes	
	Absents		Absents		Rudiments branchiaux		OO		OO		TO		Plus nombreuses et lamelleuses		Disparaissent	
	Absents		Absents		Absents		OO		OO		TO		Plus nombreux		Persistent	
	Branchiosstégite + pleure		Branchies		Epipodites		TO		OO		TO		TO		Persistent	
	SO		OO		TO											

Chez les nauplii et zoés 1, aucune structure osmorégulatrice n' a pu être mise en évidence.

Chez les jeunes stades larvaires suivants (zoé 2 - zoé 3) dépourvus de branchies et d'épipodites, seuls les tissus épithéliaux du branchiosstégite et de la pleure montrent des caractères cytologiques susceptibles de les impliquer dans les mécanismes d'osmorégulation.

Chez les stades larvaires avancés (à partir de mysis 1 - mysis 2) et les stades post-

Fig 62 : Ontogénèse des structures osmorégulatrices chez *Penaeus japonicus*
 Z1 : zoé 1 ; Z2 - Z3 : zoé 2 - zoé 3 ; M1 : mysis 1 ; M2 - M3 : mysis 2 - mysis 3 ; PL : post-larve ; Juv-Ad : juvénile-adulte ; B : branchie ; Bb : bourgeon branchial ; Brt : branchiostégite ; Ep : épipodite ; Pl : pleure.
 Les zones hachurées représentent les structures osmorégulatrices. Les échelles de taille des différents stades ne sont pas respectées.



larvaires, les branchies et les épipodites se mettent en place. Les branchies à structure épithéliale simple assureraient plutôt la respiration au début ; les épipodites ayant une différenciation assez précoce viendraient secondar le branchiostégite et la pleure dans leur fonction osmorégulatrice.

Chez les juvéniles et les adultes, les structures différenciées ont disparu au niveau du branchiostégite et de la pleure ; les branchies sont par contre légèrement différenciées et les épipodites restent toujours hautement différenciés. Les deux types de structure participeraient simultanément à l'osmorégulation.

Dans les chapitres ultérieurs, nous envisagerons les relations possibles entre, d'une part l'ontogénèse et les caractéristiques cytologiques de ces différents tissus, d'autre part la mise en place des mécanismes physiologiques et biochimiques de l'osmorégulation de *P. japonicus*.

OSMOREGULATION
TOLERANCE A LA SALINITE ET
CHAPITRE V

5-1 INTRODUCTION

La salinité et la température sont, parmi les facteurs abiotiques, les plus importants par leurs effets sur la croissance et la survie d'un grand nombre d'espèces aquatiques (SANDOZ et ROGERS, 1944 ; COSTLOW *et al.*, 1960, 1962, 1966 ; LANCE, 1964 ; revues in KINNE, 1970, 1971 ; ROBERTS, 1971 ; KNOWLTON et SCHOEN, 1984). Cette influence est en général plus marquée chez les organismes qui passent leur existence en partie en mer (où les variations de la salinité et de la température sont atténuées) et en partie dans les zones côtières ou estuariennes (où les deux facteurs sont sujets à d'amples fluctuations). Ce sont souvent les jeunes stades qui colonisent les milieux côtiers ou estuariens et à part quelques exceptions, c'est le cas général chez les Pénéides (PEARSE et GUNTER, 1957).

De nombreuses études ont montré que ces deux facteurs agissent le plus souvent en synergie. Ainsi, chez les jeunes adultes de *Homarus americanus*, les salinités extrêmes tolérables sans mortalité sont fortement influencées par la température (Mc LEESE, 1951, 1956). Chez certaines espèces tel que *Crangon crangon* (BROEKEMA, 1941), *Crangon allmani* (SPARAGAREN, 1971), *Palaemon serratus* (KEISER et ALDRICH, 1976), l'interaction de ces deux facteurs se manifeste par des migrations saisonnières; les préférences de salinité varient avec les périodes de l'année: en particulier l'attraction pour les faibles salinités devient importante en été.

Les effets associés salinité-température ont fait l'objet de nombreux travaux qui montrent une grande variabilité de réponses selon les espèces. La majorité des espèces étudiées se caractérisent par une importante tolérance à la salinité dans les faibles températures (revue in KINNE, 1971), comme par exemple chez *Palaemon elegans* (RAMIREZ DE ISLA HERNANDEZ et TAYLOR, 1985). Néanmoins, il existe plusieurs exceptions; parmi les Nantia, *Palaemon varians* (HAGERMAN et UGLOW, 1983) et *Upogebia africana* (HILL et ALLANSON, 1971) ont une tolérance à la salinité plus importante aux températures élevées.

En ce qui concerne les larves, la tolérance à la salinité et à la température varie selon le stade. C'est la cas chez les différentes zoés de *Panopeus herbstii* (COSTLOW *et al.*,

1962). Chez *Rhithropanopeus harrisi*, la survie est largement affectée par la salinité et par l'interaction salinité-température (COSTLOW *et al.*, 1966). Les larves de *Pagrus criniticornis* peuplant les côtes de Sao-Paulo sont moins tolérantes aux valeurs extrêmes supérieures de salinité-température (55‰, 35°C) qu'aux valeurs inférieures (15‰, 15°C) (BLASZKOWSKI *et MOREIRA*, 1986). Des populations provenant d'eaux froides (côtes de l'Argentine) ou chaudes (régions équatoriales) sujettes à des régimes thermiques différents ont probablement des limites de tolérance différentes. Ainsi les larves d'eaux froides telles que celles de *Pagrus prideauxi* (GOLDSTEIN *et* BOOKHOUT, 1972), de *Pagrus bernhardus*, de *Paralichthodes brevipes* (DAWIRS, 1979), de *Lithodes antarcticus* (VINUESA *et al.*, 1985) survivent mieux dans les basses températures. La température optimale pour la survie est de 8 à 11°C chez les larves de la crevette *Pandalus jordani*, espèce abondante dans les eaux froides des zones tempérées et boréales (ROTHLISBERG, 1979).

Chez les larves des Pénéides, la réaction à la salinité-température varie selon les stades chez *Penaeus duorarum* (EWALD, 1965), *Penaeus marginatus* (GOPALAKRISHNAN, 1976), *Metapenaeus bennettiae* (PRESTON, 1985) et *Metapenaeus ensis* (CHUO *et* SO, 1987).

Donc de façon générale, les effets associés de la salinité et de la température varient selon les espèces, l'âge et l'origine géographique.

Les variations de salinité se traduisent par des adaptations physiologiques différentes chez les organismes marins. Ces adaptations sont mises en place afin de maintenir la balance hydrique et ionique de l'organisme dans un état d'équilibre compatible avec le fonctionnement cellulaire. Pour concourir à maintenir un tel équilibre, il existe chez les organismes marins, outre la régulation isosmotique intracellulaire, quatre types de régulation osmotique extracellulaire : la régulation iso-osmotique ou l'hémolymphe reste à peu près osmotique par rapport au milieu extérieur, la régulation hyper-isosmotique où l'hémolymphe est hyper-osmotique par rapport au milieu dans les eaux diluées, et à peu près isosmotique dans les milieux concentrés, la régulation hyper-osmotique où l'hémolymphe est hyper-osmotique en milieu dilué, hypo-osmotique en milieu concentré et la régulation hyper-osmotique où l'hémolymphe est constamment hyper-osmotique quelque soit le milieu.

L'espèce *P. japonicus*, comme la majorité des crevettes Pénéides, a une régulation hyper-hypo-osmoïque (EXBRAYAT et BOURGUET, 1982 ; CHARMANTER-DAURES *et al.*, 1988).

La plupart des études portant sur l'osmorégulation des Crustacés ont été menées sur des formes adultes (revue in : MANTREL et FARMER, 1983 ; CHARMANTER, 1987 b) et il existe très peu de données sur l'osmorégulation des larves et post-larves. Celles-ci sont résumées sur le tableau 5. Selon les espèces, les capacités osmorégulatrices peuvent varier en fonction des stades de développement ou rester inchangées. Le type de régulation adulte peut aussi s'établir à différents moments de développement. Si de nombreuses études existent sur la tolérance aux faibles salinités d'un côté et sur les capacités osmorégulatrices chez les jeunes stades d'un autre côté, très peu par contre ont essayé d'établir la corrélation entre les deux chez une même espèce.

L'objectif de cette étude, menée chez *P. japonicus*, a été :

* D'évaluer la tolérance aux faibles salinités en relation avec la température pour certains stades de développement.

* De définir l'ontogénèse de l'osmorégulation

Les résultats à en attendre devraient permettre :

* Sur un plan fondamental, de comparer *P. japonicus* avec les autres espèces précédemment étudiées, d'essayer d'établir l'existence potentielle de différents types d'ontogénèse de l'osmorégulation et de montrer les corrélations possibles entre l'évolution des capacités osmorégulatrices et la tolérance à la salinité.

* Sur un plan appliqué de connaître les limites de tolérance de l'espèce que ce soit dans le milieu d'élevage ou dans le milieu naturel, afin de réduire au maximum la mortalité pour sauvegarder le stock. De même, il est important de connaître les capacités osmorégulatrices des différents stades de l'espèce afin de savoir s'ils seront capables de supporter les variations de salinité auxquelles ils pourront être confrontés.

TABLEAU 5 : résumé des études portant sur l'osmorégulation de certains Crustacés

ESPECE	Développement larvaire	Type(s) d'osmorégulation durant le développement post-embryonnaire chez l'adulte
<i>Rithropanopeus harrisi</i>	4 zoés	Hyper-osmoconforme de 14 à 40‰ Légère hyper-régulation dans les milieux dilués. Isosmotique pendant l'intermue du stade V.
<i>Cardisoma guanhumi</i>	5 zoés	Hyper-osmoconforme < 20‰ Tendance à l'hyper-régulation dans 30-48‰ pour les zoés 3, 4 et 5.
<i>Callinectes sapidus</i>	7 zoés, plusieurs mégaloopes	Hyper-osmorégulation chez zoé 1, 2 et la dernière mégaloope. Isorégulation chez la zoé 7. Hyper-osmoconforme chez les autres stades.
<i>Hepatus epheliticus</i>	3 zoés	Hyper-isorégulation chez zoé 1. Légère hypo-régulation chez les stades suivants. Les larves approchant la mégaloope et les stades crabes benthiques osmoconforment graduellement.
<i>Libinia emarginata</i>	2 zoés 1 mégaloope	Osmoconforme chez zoé 1 et la dernière mégaloope. Légère hypo-régulation chez zoé 2 et les premières mégaloopes.
<i>Sesarma reticulatum</i>	3 zoés 1 mégaloope	Hyper-régulation dans 10 - 35‰ Légère hyper-régulation dans 40‰.
<i>Clibanarius vittatus</i>	5 zoés 1 mégaloope	Hyper-osmoconforme de 6,8 à 40,8‰.
<i>Macrobrachium petersi</i>	9 stades larvaires	Hyper-hypo-régulation.
<i>Uca subcylindrica</i>	2 zoés 1 mégaloope	Légère hyper-régulation chez les zoés I et II. Légère hyper-hypo-régulation chez la mégaloope.
<i>Callinasssa jamaicensis</i>	2 zoés	Légère hyper-régulation dans milieu > 27,2 - 30,6‰.
<i>Homarus americanus</i>	1 prélarve 3 stades larvaires (I - III) zoés ou mysis Stade post-larvaire (IV)	Légèrement hyper-osmoconforme chez les larves. Hyper-iso-régulation chez la post-larve. Légère hyper-régulation en milieu dilué Iso-régulation en milieu concentré (19)

<i>Hommarus gammurus</i>	(20)	I prélarve 3 stades larvaires (I-III) Stade post-lar- vaire (IV)	Légèrement hyper-osmoconforme chez les larves. Hyper-iso-régulation chez la post-larve.	Légère hyper-régulation en milieu dilué. Iso-régulation en milieu concentré (21).
--------------------------	------	--	---	--

(1)	KALBER et COSTLOW (1966)	(12)	READ (1984)
(2)	SMITH (1967)	(13)	RABALAIS et CAMERON (1985)
(3)	KALBER et COSTLOW (1968)	(14)	FELDER <i>et al</i> (1986)
(4)	PEARSE (1932)	(15)	FELDER (1978)
(5)	QUINN et LANE (1966)	(16)	CHARMANTIER <i>et al</i> (1981)
(6)	KALBER (1970)	(17)	CHARMANTIER <i>et al</i> (1984 a)
(7)	BALLARD et ABBOTT (1969)	(18)	CHARMANTIER <i>et al</i> (1988)
(8)	GILLES (1970)	(19)	DALL (1970)
(9)	FOSKETT (1977)	(20)	THUET <i>et al</i> (1988)
(10)	YOUNG (1979 a)	(21)	CHARMANTIER <i>et al</i> (1984 b)
(11)	YOUNG (1979 b)		

5-2 RESULTATS

5-2-1 Tolérance à la salinité

Ces expériences ont été réalisées durant les mois de Février à Mai.

5-2-1-1 Tolérance aux faibles salinités à 25°C (fig 63)

Chez *P. japonicus*, la tolérance aux faibles salinités varie suivant les stades de développement considérés. La SL 50, 24 h (salinité létale pour 50% des individus après 24 h) augmente durant le développement larvaire de 16-20‰ (environ 470-640 mosm.kg⁻¹) chez les nauplii et zoés I jusqu'à 25‰ (environ 740 mosm.kg⁻¹) au cours de la métamorphose chez les mysis 3 et les premières post-larves PL1. Après la métamorphose, la SL 50, 24 h diminue progressivement par la suite jusqu'au stade PL 6 (c'est-à-dire 12 jours après la métamorphose) (10‰, environ 310 mosm.kg⁻¹) et plus lentement jusqu'à PL10 (7‰, environ 200 mosm.kg⁻¹).

Comme la tolérance à la salinité est inversement proportionnelle à la SL 50, les résultats ci-dessus montrent donc que la tolérance à la salinité diminue progressivement au cours de la vie larvaire, est minimum à la métamorphose et augmente progressivement chez les post-larves.

La SL 50, 6h, non représentée sur le graphique de la figure 63, est plus faible que celle de 24 h (tolérance plus grande), mais suit les mêmes variations. Elle augmente de 15 - 17‰ (environ 450-500 mosm.kg⁻¹) chez les nauplii et zoés jusqu'à 22‰ (environ 650 mosm.kg⁻¹) chez les PL1. Elle diminue rapidement jusqu'à 9‰ (environ 265 mosm.kg⁻¹) à PL6 puis plus lentement jusqu'à 4‰ (environ 125 mosm.kg⁻¹) en PL10.

La SL 50, 48 h plus élevée que celle de 24 h, suit également les mêmes variations. Elle est de 21‰ (environ 630 mosm.kg⁻¹) chez les nauplii, augmente jusqu'à 26‰ (environ 780 mosm.kg⁻¹) chez les PL1, diminue rapidement jusqu'à 11‰ (environ 340 mosm.kg⁻¹) en PL6 pour atteindre 7‰ (environ 200 mosm.kg⁻¹) en PL10.

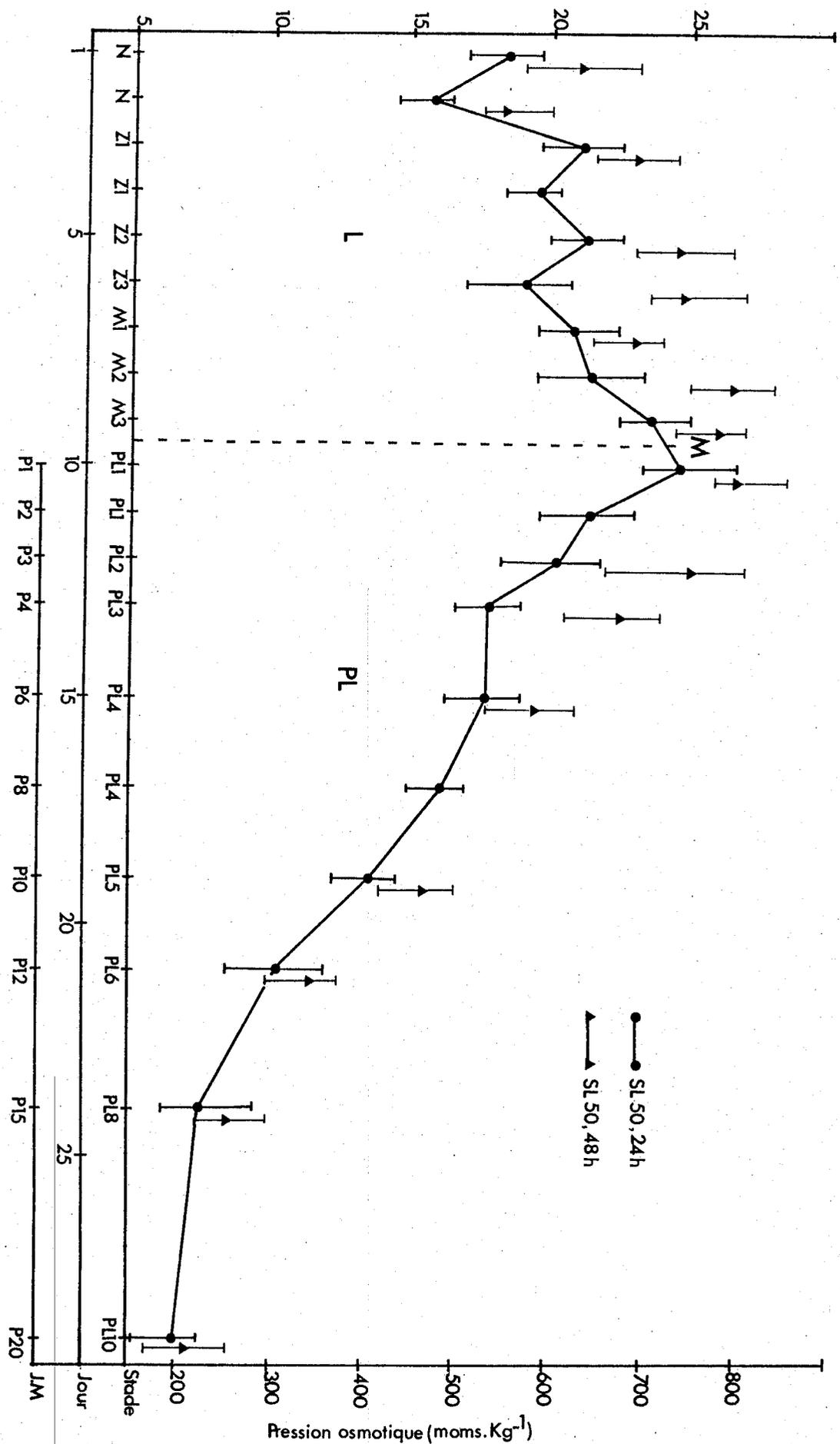


Fig 63 :

Tolérance à la salinité chez les larves (L) et les post-larves (PL) de *Penaeus japonicus* à 25°C. Variation de SL 50 en ‰ et en mosm. Kg⁻¹ à 24 et 48 h en fonction du stade de développement, du nombre de jours après la ponte, et du nombre de jours après la métamorphose (J.M). Chaque point représente la moyenne d'au moins deux mesures ± intervalle de confiance (95%).

N : nauplius ; Z : zoé ; M : mysis ; PL : stade post-larvaire ; P : nombre de jours après la métamorphose.

5-2-1-2 Tolérance des stades post-larvaires aux faibles salinités à différentes températures (tableau 6 et fig 64)

La tolérance aux faibles salinités a été étudiée chez des post-larves issues de la même femelle, élevées à 25°C puis transférées à 25, 19 et 15°C pour l'expérimentation.

Tableau 6 : SL 50, 24 h exprimées en ‰ et en mosm.Kg⁻¹ évaluées chez les post-larves à différentes températures

Stade	Temp	15° C	19° C	25° C
PL2 _{mosm.Kg⁻¹}		23.3	18	20.0
		700	550	610
PL6		10.7	8.5	9.0
		320	260	260
PL10		9.0	4.6	7.0
		170	140	200

Quelle que soit la température la SL 50 diminue (donc la tolérance augmente) avec la succession des stades post-larvaires. On peut noter qu'à 25°C, ces résultats sont proches de ceux obtenus à partir d'animaux issus d'une femelle différente (paragraphe 5-1-1). Pour chaque stade, la SL 50 est maximum (tolérance minimum) à 15°C. Les résultats obtenus à 19° et 25°C sont proches, avec cependant une tolérance à la salinité un peu plus élevée à 19°C.

5-2-1-3 Tolérance des stades post-larvaires aux milieux concentrés

Dans un premier essai, nous avons soumis des post-larves PL2 à PL10 à des salinités de 40.8‰ (1200 mosm.kg⁻¹) et 44.2‰ (1300 mosm.kg⁻¹) à 15 et 25°C. Aucune mortalité à 24 et 48 h n'a été notée dans ces conditions.

A la suite de ces résultats, des post-larves PL2 à PL10 ont été exposées à des

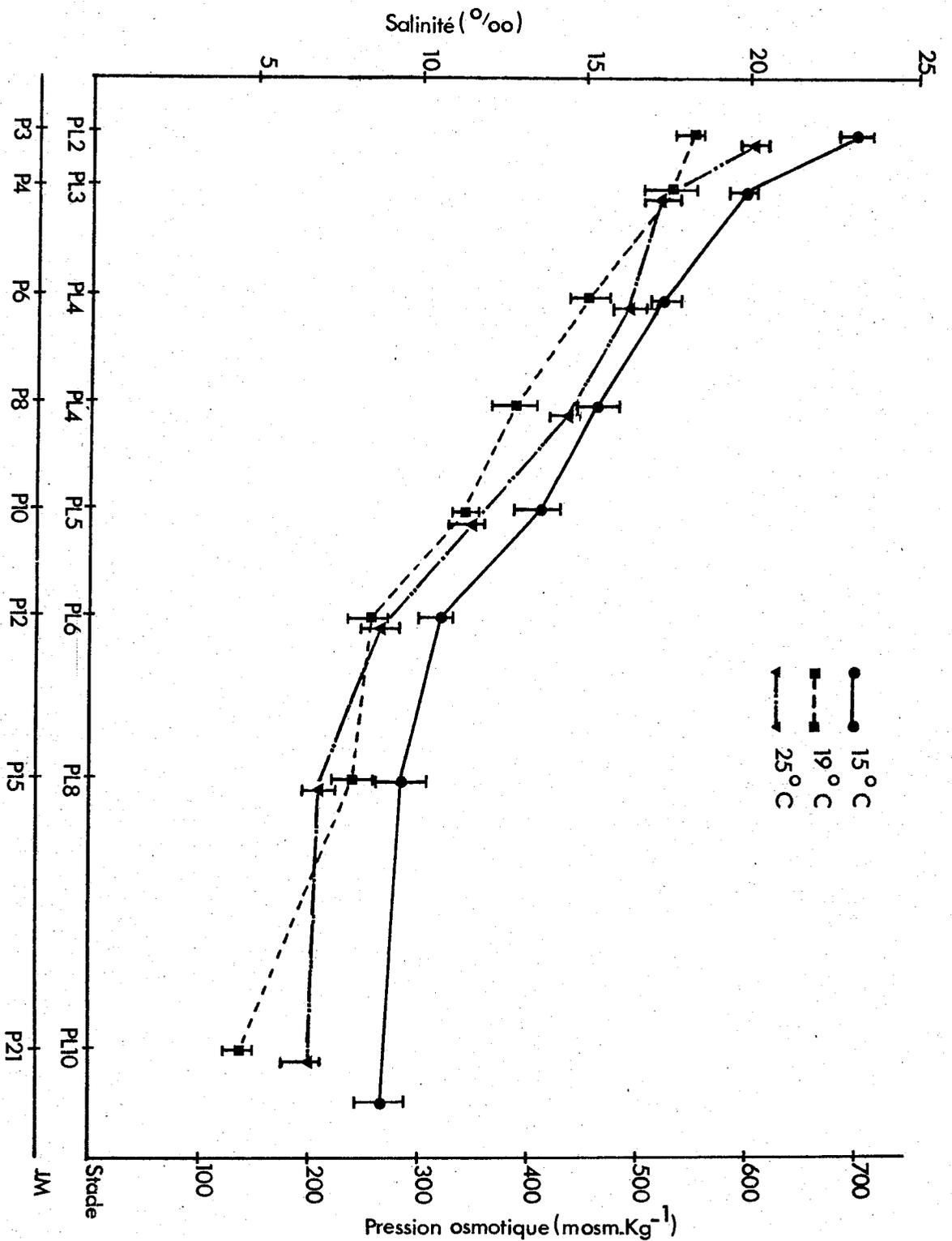


Fig 64 : Tolérance à la salinité des post-larves de *Penaeus japonicus* à différentes températures. Variations de la SL, 50, 24 h en‰ et en mosm. Kg⁻¹ en fonction du stade de développement et du nombre de jours après la métamorphose (J.M). Chaque point représente la moyenne d'au moins deux mesures ± intervalle de confiance (95%). PL : stade post-larvaire ; P : nombre de jours après la métamorphose.

Le type de régulation change à la métamorphose. Dès le début du premier stade

Les trois stades mysis présentent également une régulation hyper-osmoconforme. Au stade mysis 1, le gradient osmotique entre l'hémolymphe et le milieu (500 mosm.kg⁻¹) est de 30 mosm.kg⁻¹. Les larves mysis 2 sont isosmotiques; pour les mysis 3 la plus faible salinité compatible avec la survie est de 23.8‰, 700 mosm.kg⁻¹, milieu dans lequel le gradient osmotique hémolymphe-milieu est de 15 mosm.kg⁻¹.

Les stades zoé 2 et 3 sont légèrement hyper-osmoconformes sur toute l'étendue de l'échelle des salinités. Dans un milieu dilué à 17‰, 500 mosm.kg⁻¹, le gradient osmotique entre l'hémolymphe et le milieu est d'environ 10 mosm.kg⁻¹. L'hyper-osmoticité augmente légèrement en fin de zoé 3 et le gradient osmotique entre l'hémolymphe et le milieu dépasse 30 mosm.kg⁻¹.

5-2-2-2 Capacité osmorégulatrice (fig 67)

Après un transfert rapide depuis l'eau de mer (35.5‰, 1050 mosm.kg⁻¹) dans un milieu dilué (17‰, 500 mosm.kg⁻¹), la pression osmotique de l'hémolymphe est stabilisée en 1 h au stade zoé 3, 2 à 3 heures chez les post-larves PL4 (P6) et environ 6 h chez les post-larves PL10 (P20). Pour toutes les expériences suivantes, nous avons maintenu les animaux de 6 à 24 h dans chaque milieu avant la mesure de leur pression osmotique.

5-2-2-1 Temps d'adaptation (fig 66)

5-2-2 Osmorégulation

milieux concentrés, de salinités 51‰ (1500 mosm.kg⁻¹) et 58.8‰ (1700 mosm.kg⁻¹) à 19°C. Les résultats sont donnés après 24 h (fig 65). Dans le milieu à 51‰ (1500 mosm.kg⁻¹) le taux de survie est faible (environ 25 %) chez les jeunes post-larves et augmente chez les post-larves plus âgées pour atteindre environ 95 % à partir de PL5. Dans le milieu le plus concentré (57.8‰, 1700 mosm.kg⁻¹) la mortalité est de 100 % jusqu'au stade PL6; quelques post-larves survivent à partir de PL8 et le taux de survie atteint environ 50% chez les PL10.

● 35.5 ‰ (1050 mosm.Kg⁻¹)

■ 51 ‰ (1500 mosm.kg⁻¹)

▼ 57.8 ‰ (1700 mosm.Kg⁻¹)

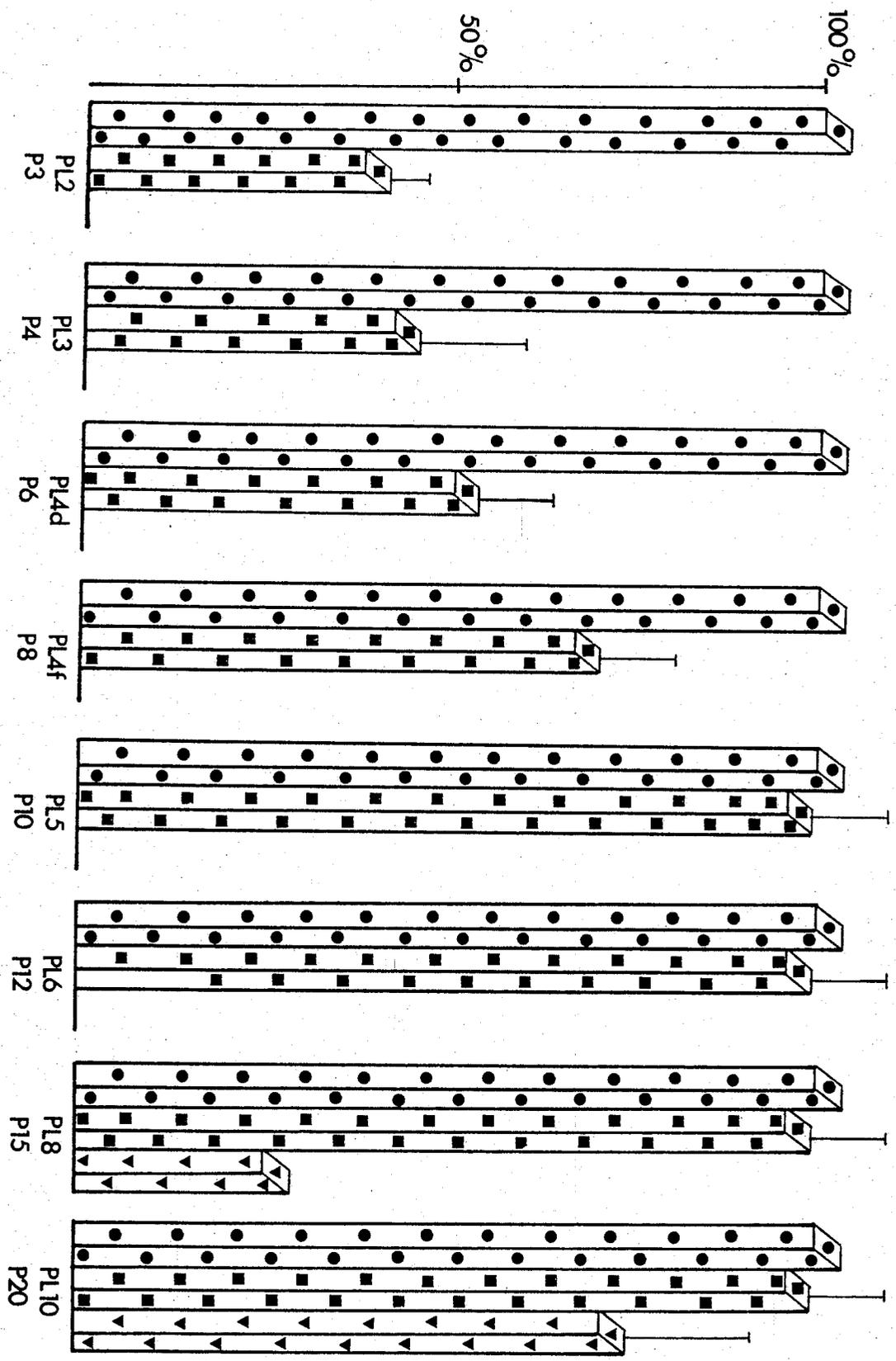
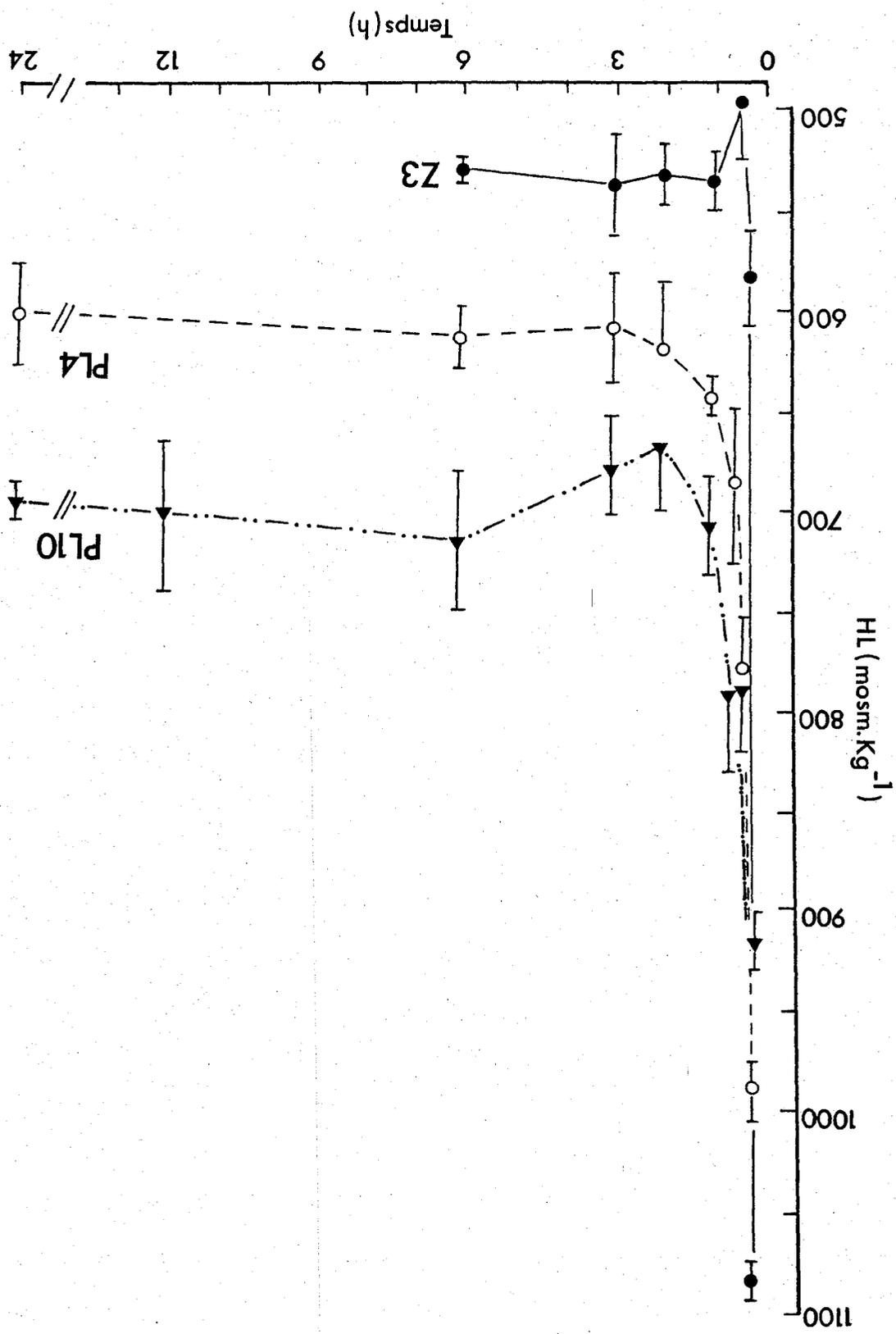


Fig 65 : Taux de survie des stades post-larvaires de *Penaeus japonicus* dans des milieux concentrés de salinité 51 ‰, 57.8 ‰, à 19°C. Milieu témoin : eau de mer, 35.5 ‰. Les valeurs indiquées sont les moyennes d'au moins deux mesures ± erreur type (celle-ci est nulle lorsque les valeurs des mesures étaient égales).

Fig 66 : Modification de la pression osmotique de l'hémolymphe (HL) chez le stade Zoé 3 et post-larves PL4 et PL10 de *Penaeus japonicus* après transfert rapide de l'eau de mer (35.5 ‰, 1050 mosm. Kg⁻¹) dans un milieu dilué (17 ‰, 500 mosm. Kg⁻¹) à 25°C. Chaque point représente la moyenne de mesures faites sur 10-15 animaux ± intervalle de confiance (95%).



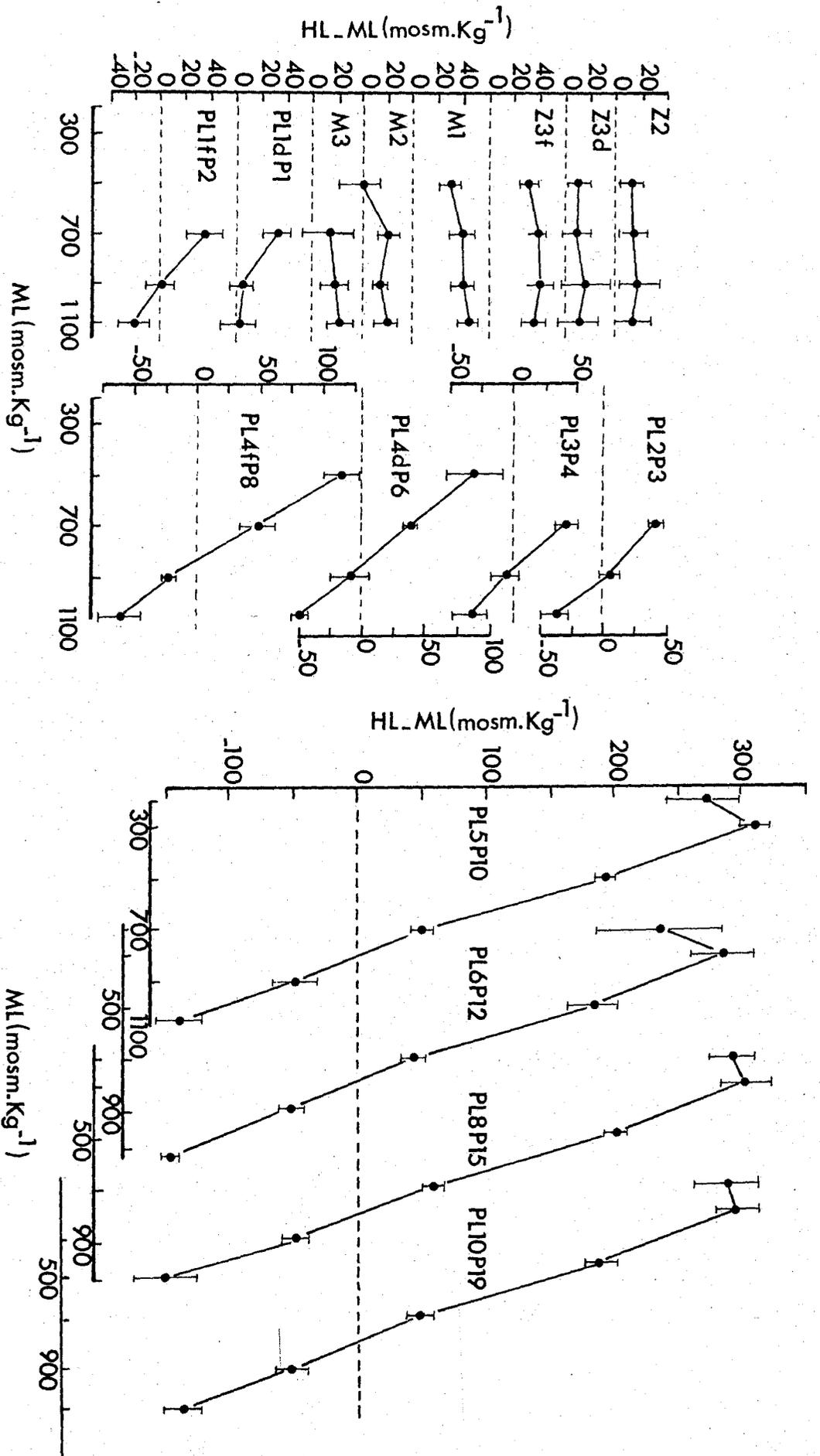


Fig 67 : Variation de la différence entre les pressions osmotiques de l'hémolymphe et du milieu (HL - ML) en fonction de la pression osmotique du milieu (ML) chez les stades larvaires et post-larvaires de *Penaeus japonicus* à 25°C . Chaque point représente la moyenne de mesures faites chez 10 à 15 animaux \pm intervalle de confiance (95%).

post-larvaire PL1 apparaît une tendance à l'isosmotie dans un milieu à 30.6‰, 900 mosm.kg⁻¹. A partir de la fin de PL1, la régulation devient légèrement hyper - (en milieux dilués), hypo - (en eau de mer) osmotique. Cette tendance s'accroît dans les jours suivant la métamorphose, avec augmentation respective de l'hyper- et de l'hypo-régulation. A partir des stades PL5, PL6 le gradient osmotique entre l'hémolymphe et le milieu atteint + 300 mosm.kg⁻¹ (dans un milieu dilué à 300 mosm.kg⁻¹, 10‰), + 200 mosm.kg⁻¹ (dans un milieu de 500 mosm.kg⁻¹, 17‰) et - 150 mosm.kg⁻¹ (dans l'eau de mer, 1050 mosm.kg⁻¹, 35.5‰). Le milieu correspondant à l'isosmotie avec l'hémolymphe change progressivement de 900 mosm.kg⁻¹ (30.5‰) chez les PL1, à 800 mosm.kg⁻¹ (27‰) chez les PL5 - PL6. Chez ces derniers stades, l'osmorégulation est donc de type adulte avec une capacité maximum de l'hyper - et de l'hypo-régulation. Chez des stades post-larvaires plus âgés, la capacité osmorégulatrice ne varie plus.

5-3 DISCUSSION ET CONCLUSION

5-3-1 Tolérance à la salinité

5-3-1-1 Tolérance aux faibles salinités

Chez *P. japonicus*, la SL 50, 24 h à 25°C varie de 16-20‰ chez les stades larvaires avec une valeur maximale à la métamorphose (tolérance minimale). Elle diminue progressivement à 10‰ des stades post-larvaires PL1 à PL6 jusqu'à 7‰ chez les PL10. Ainsi la variation de la tolérance aux faibles salinités se caractérise par une fragilité des stades précédant et suivant la métamorphose. Déjà en 1915, SHELFORD avait remarqué que certains stades d'animaux aquatiques étaient plus sensibles aux variations de salinité. Depuis, d'autres études ont montré que les conditions optimales de salinité pour la survie des larves de Crustacés varient durant le développement. (BROEKHUYSEN, 1936 ; SANDOZ et ROGERS, 1944 ; COSTLOW *et al.*, 1960, 1962, 1966).

La comparaison avec d'autres espèces s'avère difficile à cause de l'hétérogénéité des conditions expérimentales; de plus, les études portant sur l'effet de la salinité sur la survie des larves et post-larves sont limitées et incluent rarement tous les stades. Chez *Penaeus duorarum* (EWALD, 1965), *P. marginatus* (GOPALAKRISHNAN, 1976),

Metapenaeus bennettiae (PRESTON, 1985) et *M. ensis* (CHUO et SO, 1987), les larves zoés sont moins résistantes aux faibles salinités que les mysis ; d'après HUDINAGA (1942), il en est de même chez *P. japonicus*. Les différences entre ces données et nos résultats peuvent être expliquées de deux manières. En premier lieu, les conditions différentes de nourriture peuvent interférer avec l'effet de la salinité; PRESTON (1985) signale que l'effet de la privation de nourriture est plus net que ceux de la salinité et de la température dans la détermination de la survie chez les stades zoés de *Metapenaeus bennettiae*. D'autre part, les études de ces auteurs ont été conduites sur de longues périodes, jusqu'à l'achèvement du développement larvaire, ce qui n'a pas été notre cas. La fragilité observée vers la fin du développement larvaire de *P. japonicus* est signalée chez *Macrobraichium americanum* (HOLTSCHMIT et PFILLER, 1984). De même, la fragilité qui se prolonge après la métamorphose chez le premier stade post-larvaire chez *P. japonicus* est signalée chez *Homarus americanus* (TEMPLERMAN, 1936; CHARMANTIER *et al.*, 1988). D'ailleurs, chez cette espèce, la SL 50, 24h à 20°C, présente le même profil que celui de *P. japonicus*. Elle varie de 14-17‰ chez les larves jusqu'à 10,5 - 12‰ chez les post-larves avec une tolérance minimum à la métamorphose (CHARMANTIER *et al.*, 1988).

La comparaison des capacités de survie des larves de *P. japonicus* avec celles des autres espèces ayant des biotopes similaires est difficile, car, à notre connaissance, seules les espèces estuariennes, d'eaux saumâtres et côtières ont été étudiées. Chez les espèces estuariennes et / ou d'eaux saumâtres, les zoés de *Palaeomonetes pugio* ont une SL 50, 96h de 16‰ à 20 - 26°C (KNOWLTON et KIRBY, 1984). Ceci rejoint les données de BROAD (1957) qui relève une mortalité importante de ces zoés à des salinités inférieures à 10‰ dans les conditions de laboratoire. Les zoés de *Palaeomon vulgatis* ont des capacités de survie similaires à celle de *P. pugio* à 21-24°C (KNOWLTON et SCHOEN, 1984). Chez *Carcinus maenas*, les zoés ont une SL 50, 20 h inférieure à 12,6‰ à 17°C (LANCE, 1964). Chez *Sesarma cinereum*, la mortalité est relativement faible en zoé 2 et 3 dans un milieu à 12,5‰ (COSTLOW *et al.*, 1960).

Chez les espèces d'eau douce dont le développement larvaire se déroule dans les eaux saumâtres, les larves de *Macrobraichium americanum* ont été élevées avec succès dans des salinités s'étendant de 10 à 16‰ (MONACO, 1975; ARANA, 1974; LU *et al.*, 1976). Chez *M. carcinus*, les larves peuvent survivre dans l'eau douce pendant 5 à 6 jours,

la salinité optimum pour leur développement étant de 14 - 17‰ (CHOUDHURY, 1971). Celle-ci est assez proche de celle notée chez *M. rosenbergii* (LING et MERICAN, 1961), et *M. acantharus* (CHOUDHURY, 1970), soit 12-14‰ et 14-17‰ respectivement.

Chez les espèces côtières comme *Pagrus criniticornis*, peu de zoé I survivent jusqu'au stade III dans 15‰ à 20°C. Dans ces conditions, la survie est extrêmement faible et seulement 2% des premières zoés atteignent le stade Crabe I (BLASZKOWSKI et MOREIRA, 1986). Chez *Homarus americanus*, les capacités de survie sont néanmoins meilleures puisque la SL 50, 24 h à 20°C est de 14-17‰ du stade I au stade III (CHARMANTIER *et al.*, 1988).

De façon générale, il apparaît ainsi que les stades larvaires estuariens et d'eaux saumâtres ont les capacités de survie les plus élevées dans les milieux dilués. Les stades côtiers ont des aptitudes de survie intermédiaires et les stades vivant en pleine mer ont des capacités faibles puisque la moyenne de la SL 50, 24 h, 25°C chez les zoés de *P. japonicus* est d'environ 20‰ et est plus élevée que celle des espèces citées auparavant.

En ce qui concerne les stades post-larvaires et juvéniles, la comparaison avec d'autres espèces devient plus aisée. Rappelons que chez *P. japonicus*, la SL 50, 24 h et 48 h à 25°C est de 7‰ chez les PL10. Des valeurs similaires ont été trouvées par d'autres auteurs chez des stades plus âgés de la même espèce. Des post-larves P20 et des juvéniles P40, P60 ont une SL 50, 96h, 25°C moyenne de 5.4‰ (CHARMANTIER-DAURES *et al.*, 1988) et des juvéniles de 20 à 50 mm de longueur ont une SL 50, 48h, 20°C de 6.5‰ (DALLA-VIA, 1986).

Chez les autres espèces de Pénéides dont les stades post-larvaires sont également côtiers comme ceux de *P. japonicus* ou estuariens, les capacités de survie dans les milieux dilués sont plus importantes que celles de *P. japonicus*. Les post-larves de *P. aztecus* (de longueur 12 mm) ont une excellente survie pendant 24 h dans 4‰ à 25°C et après 28 jours d'adaptation, les pourcentages de survie sont toujours très élevés (ZEIN-ELDIN et ALDRICH, 1965). Les juvéniles de *P. esculentus* et *P. plebejus* ont une limite létale inférieure de 2,3‰ à 22-25°C (DALL, 1981). Ceux de *Metapenaeus bennettiae* peuvent même s'adapter à l'eau douce et survivent parfois 2 jours dans l'eau désionisée à 22-25°C (DALL, 1981). Chez les jeunes post-larves de *P. monodon* vivant en eau saumâtre et âgées de 28 jours, les capacités de survie dans les milieux dilués sont plus importantes puisque leur transfert direct dans 1.7‰ ne provoque que 15% de mortalité

(CAWTHORNE *et al*, 1983). L'acclimatation de jeunes post-larves de cette espèce dans un lac d'eau douce aux Philippines a pu être ainsi réalisée (PANTASTICO et OLIVEROS, 1980). Quant à *P. chinensis*, la SL 50, 96h, 25°C moyenne des P20, P40, P60 de 11.1‰ (CHARMANTIER-DAURES *et al*, 1988) suggère peut-être des capacités de survie moins importantes par rapport aux autres espèces de Pénéides. La tolérance aux faibles salinités varie donc selon les espèces pour les stades post-larvaires et juvéniles. Dans les mêmes conditions expérimentales, Mc FARLAND et LEE (1963) trouvent que les juvéniles de *P. setiferus* tolèrent mieux les faibles salinités que ceux de *P. aztecus*. Ceci explique peut être pourquoi l'espèce *P. setiferus* est plus abondante dans les milieux dilués que *P. aztecus* et *P. duorarum* (WILLIAMS, 1955 ; GUNTER *et al*, 1964). Mais malgré cette variation interspécifique, les stades post-larvaires et juvéniles des Pénéides, de par leur biotope côtier ou estuarien soumis à des variations de salinité, présentent des aptitudes de survie très importantes dans les milieux dilués. Cette caractéristique se retrouve, peut-être à un moindre degré chez d'autres espèces côtières tel que *Homarus gammarus* dont les juvéniles survivent sans aucune mortalité jusqu'à 17‰, 15°C et la mortalité reste encore faible, de l'ordre de 11% jusqu'à 13.6‰ (CHARMANTIER *et al*, 1984 b). La limite de tolérance inférieure est aussi de 17‰ chez les juvéniles de *H. americanus* (CHARMANTIER *et al*, 1984 a).

En conclusion, il apparaît que les Pénéides sont bien adaptés à leur milieu. Les stades larvaires vivant en pleine mer ont des tolérances à la salinité relativement faibles ; la métamorphose est caractérisée par une très faible tolérance à la salinité ; les stades post-larvaires et juvéniles vivant au niveau des côtes ont acquis des capacités de survie plus élevées pour affronter les variations de salinités auxquelles ils pourraient être soumis dans ces zones. (Chez *P. japonicus*, la SL 50, 24h, 25°C chez les zoés, à la métamorphose et chez les PL10 est de 20‰, 25‰ et 7‰ respectivement).

5-3-1-2 Influence de la température sur la tolérance aux faibles salinités.

La SL 50, 24h diminue avec la succession des stades post-larvaires quelle que soit la température. Elle est par exemple chez les PL 10 de 9‰, 4.6‰, 7‰ à 15, 19 et 25°C respectivement. Donc la température a une influence importante sur la tolérance à la salinité. En particulier, son abaissement à 15°C diminue la tolérance à la salinité de *P. japonicus*.

Chez un stade post-larvaire (P20) et des juvéniles (P40 - P60) de *P. japonicus* CHARMANTIER-DAURES *et al* (1988) ont montré qu'il n'y a pas de variation du taux de survie pour des animaux exposés à 25 et 18°C. Par contre ceux-ci montrent une tolérance réduite aux faibles salinités à la suite de l'abaissement de la température à 14 et surtout 10°C. En moyenne pour les trois stades étudiés, les SL 50, 96h s'établissent à 19,3‰ à 10°C, 12,1‰ à 14°C, 6,4‰ à 18°C, 5,4‰ à 25°C. Ceci est à rapprocher de nos résultats dont la SL 50 est donnée à 24h. Chez une autre espèce, *P. chinensis*, les mêmes auteurs établissent pour les mêmes stades les SL 50, 96h suivantes : 11,3‰ à 14°C, 7,2‰ à 18°C, 11,1‰ à 25°C. Donc contrairement à *P. japonicus*, l'abaissement de la température n'entraîne pas d'élévation marquée de la mortalité de cette espèce. Pour ces auteurs, l'optimum thermique plus élevé de *P. japonicus* est en rapport avec le biotope de l'espèce qu'on rencontre dans des zones (Japon, nord-est de l'Australie, ouest de l'Afrique) où les températures sont en général supérieures à celle du Pacifique Indo-Occidental (Corée, Chine, Hong-Kong) où vit *P. chinensis*.

Chez *P. aztecus*, l'excellente survie des post-larves sur une période de 24 h dans la majorité des conditions expérimentales confirme la grande tolérance à court terme à la salinité et à la température. Les animaux sont presque eurymalins à 25°C et 30°C. Néanmoins, une réduction marquée de la tolérance à la salinité en-dessous de 10‰ a été signalée à 7 et 15°C (ZEIN-ELDIN et ALDRICH, 1965). De plus la combinaison faibles salinités-faibles températures n'est pas favorable à la survie et à la croissance. En effet, BEARDEN (1961) trouve des post-larves de *P. aztecus* à des températures aussi basses que 6,5°C mais note par la suite une diminution marquée de leur abondance après le soudain coup de froid qui provoque ces faibles températures. Pour des stades plus avancés de *P. aztecus*, WILLIAMS (1960) trouve que les survies au bout de 96 h de juvéniles et sub-adultes (spécimens de 42 à 100 mm) déclinent avec la diminution de la température sur une gamme de 28,8 à 8,8°C. Chez *Metapenaeus bennettiae*, les juvéniles sont soumis dans leur biotope estuarien à des changements irréguliers et rapides de la salinité et température : ils montrent une très grande tolérance sur une large étendue de salinité (1-62‰) et de température (8 à 33°C) (AZIZ et GREENWOOD, 1981).

D'une manière générale, chez les post-larves et juvéniles de Pénéides, des températures égales ou inférieures à 15°C représentent un facteur limitant de la survie dans les milieux dilués. *P. japonicus* est incluse dans cette catégorie. Quant à *P. chinensis*

5-3-1-3 Tolérance aux milieux concentrés

et *Metapenaeus bennettiae* l'optimum thermique est moins élevé, ce qui est probablement en rapport avec l'origine géographique de ces espèces. *P. chinensis* se rencontre dans la Pacifique Indo-occidental (Corée, Chine, Hong-Kong). *M. bennettiae* est endémique de la côte de l'Australie et peuple les zones estuariennes y compris les lagunes et lacs côtiers. Cet environnement est caractérisé souvent par des changements irréguliers et rapides de température et de salinité.

Chez *P. japonicus*, des salinités élevées atteignant 44‰ n'affectent pas la survie des post-larves. Leur tolérance à des salinités atteignant 51 et 57,8‰ augmente avec le développement des stades post-larvaires.

Chez des espèces autres que les Pénéides, tels que les juvéniles de *Panulirus longipes*, la salinité extrême n'entraînant aucune mortalité est 45‰ à 20°C (DALL, 1974). Celle-ci est de 47,6‰ à 15°C chez les juvéniles de *Homarus gammarus* (CHARMANTIER *et al.*, 1984 b) et de 43‰ à 20°C chez *H. americanus* (CHARMANTIER *et al.*, 1984 a)

Quelques données comparatives sont disponibles chez les Pénéides. Pour DALLA-VIA (1986), des juvéniles de *P. japonicus* ont des mortalités relativement faibles (< 30%) après exposition de 48 h à des salinités allant jusqu'à 55‰. Aucune mortalité ne se produit à 40‰. Ces résultats sont proches des nôtres bien que nous ayons utilisé des animaux plus jeunes. Ainsi est confirmée la tolérance de *P. japonicus* à des milieux concentrés. Chez *P. aztecus*, ZEIN-ELDIN (1963) observe à température constante une survie et une croissance normale à 40‰. Les animaux plus âgés tels que les juvéniles de *Metapenaeus bennettiae* peuvent tolérer jusqu'à 62‰ de salinité (AZIZ et GREENWOOD, 1981).

Les post-larves et les juvéniles des Pénéides sont donc résistants aux milieux concentrés. L'absence de mortalité de *P. japonicus* dans un milieu à 44‰ et les survies de plus de 50 % obtenues à partir du PL10 à 51 et 57,8‰ traduisent cette grande capacité.

5-3-2 Osmorégulation

5-3-2-1 Temps d'adaptation

Chez *P. japonicus*, le temps requis pour l'équilibre osmotique dans un milieu dilué est de 1 - 2 h chez les larves et de 3 - 6 h chez les jeunes post-larves. Des valeurs similaires ont été trouvées chez *Homarus americanus* (CHARMANTIER *et al.*, 1988) et chez les larves d'autres espèces (KALBER *et COSTLOW*, 1966, 1968; KALBER, 1970; FOSKETT, 1977; FELDER *et al.*, 1986). Le temps est entre 12 et 24 h chez le jeune homard (CHARMANTIER *et al.*, 1984 a) et la crevette adulte (CHARMANTIER, communication personnelle) et de 75 h chez le homard adulte (DALL, 1970). Ainsi, le temps d'adaptation est dépendant de l'espèce. FOSKETT (1977) lia l'importance physiologique et écologique à l'adaptation rapide de la pression osmotique de l'hémolymphe aux changements de salinité du milieu naturel. Ceci est particulièrement vrai pour les larves de *P. japonicus* qui sont planctoniques et ainsi exposées aux soudains changements de salinités qui suivent les fortes pluies. Ces changements rapides nécessitent aussi l'existence d'une adaptation osmotique intracellulaire, surtout chez les stades larvaires hyper-osmoconformes de *P. japonicus*.

5-3-2-2 Capacité osmorégulatrice

La régulation osmotique subit des changements au cours du développement post-embryonnaire de *P. japonicus*. Durant la vie larvaire, les animaux (zoés 2 et 3 et mysis 1 à 3) sont légèrement hyper-osmoconformes sur toute l'étendue de l'échelle des salinités utilisées.

A partir du premier stade post-larvaire, donc juste après la métamorphose, la régulation devient hyper-hypo-osmotique, de même type que celle des adultes (CHARMANTIER-DAURES *et al.*, 1988). L'intensité de l'hyper-régulation en milieux dilués et de l'hypo-régulation en eau de mer augmente progressivement avec le temps et la succession des stades jusqu'aux 5 et 6ème stades post-larvaires PL5 - PL6, soit 10 à 12 jours après la métamorphose (P10 - P12) à 25°C; à partir des stades PL5 - PL6, les gradients osmotiques entre l'hémolymphe et le milieu sont comparables à ceux des adultes (CHARMANTIER-DAURES *et al.*, 1988).

En résumé, à une régulation larvaire hyper-osmoconforme succède après la métamorphose une régulation post-larvaire de type adulte hyper-hypo-osmotique dont l'intensité augmente jusqu'aux stades PLS - PL6.

Quelques données sont disponibles sur l'évolution des capacités osmorégulatrices durant le développement post-embryonnaire chez les Crustacés Décapodes (tableau 5). Chez plusieurs espèces, les larves sont hypo-osmoconformes, par exemple *Rhithropanopeus harrisi* (KALBER et COSTLOW, 1966), *Callinectes sapidus* (KALBER, 1970), *Sesarma reticulatum* (FOSKETT, 1977), *Clibanarius vittatus* (YOUNG, 1979 a), *Homarus americanus* (CHARMANTIER et al, 1984 a, 1988). *Penaeus japonicus* présente un type d'osmorégulation similaire.

Chez d'autres espèces, telles que *Cardisoma guanhumi* (KALBER et COSTLOW, 1968), *Hepatus epheliticus*, *Libinia emarginata* (KALBER, 1970), *Uca subcylindrica* (RABALAIS et CAMERON, 1985), *Callinasssa jamaicensis* (FEIDER et al, 1986) existent quelques capacités pour l'hypo ou l'hyper-régulation chez certains stades larvaires.

Ainsi, la majorité des larves de Décapodes qui ont été étudiées sont osmoconformes ou faiblement régulatrices. Cependant, chez les espèces confrontées à de très faibles salinités dans leur environnement naturel, tel que *Macrobrachium petersi*, espèce très hyper-hypo-régulatrice, les larves peuvent réguler efficacement la concentration osmotique de leur hémolymphe (READ, 1984).

Chez plusieurs de ces espèces, les réponses osmotiques varient peu durant le développement larvaire et post-larvaire. Ainsi FOSKETT (1977) postula "qu'il n'y a pas de tendance assez claire pour l'établissement d'un type d'osmorégulation adulte vers la fin de la vie larvaire". Cependant, des découvertes récentes et nos résultats contredisent cette généralisation. Les larves de *M. petersi*, excepté au stade I sont incapables d'osmorégulation en eau douce. Cette capacité réapparaît chez les post-larves chez qui la régulation est similaire à celle des juvéniles et des adultes (READ, 1984). Chez *U. subcylindrica*, le modèle adulte d'hyper-hypo-régulation apparaît chez la mégalope et chez le crabe stade I (RABALAIS et CAMERON, 1985). Chez *Homarus americanus* et *H. gammarus*, ce modèle de régulation s'installe après la métamorphose au stade IV

(CHARMANTIER *et al.*, 1984 a, 1988; THUET *et al.*, 1988). Il en est de même chez *P. japonicus*. Ainsi, il peut être établi chez les espèces comme *P. japonicus* dont le type d'osmorégulation adulte s'installe à la métamorphose, que cette phase marque un profond changement dans les capacités osmorégulatrices de ces espèces. Plus généralement, la métamorphose peut être considérée comme une combinaison de changements morphologiques, écologiques, comportementaux et également physiologiques (CHARMANTIER *et al.*, 1984 a; CHARMANTIER, 1987 a).

En conclusion, les différentes études menées sur de jeunes Crustacés relèvent différents modèles de développement ontogénique de l'osmorégulation. Chez certains Décapodes étudiés par FOSKETT (1977), l'osmorégulation varie très peu durant le développement et aucune tendance générale n'a pu être dégagée. Les larves sont hyper-osmoconformes et les espèces adultes sont souvent osmoconformes. Dans un deuxième groupe de Décapodes tel que *M. petersi* (READ, 1984) qui migre dans l'eau douce et saumâtre pour la reproduction, les larves sont dotées d'importantes capacités osmorégulatrices de type hyper-hypo-osmotique; l'osmorégulation adulte est établie très tôt, dès le premier stade larvaire. Dans un troisième groupe d'espèces telles *U. subcylindrica* (RABALAIS et CAMERON, 1985, *H. americanus* (CHARMANTIER *et al.*, 1988) et *P. japonicus* (cette étude), la métamorphose marque l'apparition de l'osmorégulation de type adulte. Des études futures sur d'autres espèces pourront compléter ces groupes ontogéniques.

Bien qu'il existe une importante hétérogénéité interspécifique de l'ontogénèse de l'osmorégulation chez les Crustacés, des ressemblances physiologiques peuvent cependant être mises en évidence entre des familles éloignées de Décapodes. C'est le cas du homard et des crevettes Pénéides qui appartiennent au même groupe ontogénique en ce qui concerne l'osmorégulation. Le développement post-embryonnaire des homards (Nephropidae) ne comporte qu'un petit nombre de stades larvaires assimilables à des mysis; au contraire, parmi les Décapodes, les Pénéides constituent une exception par le fait que l'éclosion donne des stades nauplii et sont par conséquent caractérisées par le nombre élevé de leurs stades larvaires. Dans les deux cas, la régulation larvaire est cependant de type hyper-osmoconforme et la métamorphose conduisant à l'apparition d'une post-larve se traduit par l'apparition du type d'osmorégulation de l'adulte. Ces

modifications morphologiques et physiologiques sont rapides chez *H. americanus* (CHARMANTIER *et al*, 1984 a, 1988) et chez *H. gammarus* (THUET *et al*, 1988) puisqu'elles s'établissent au stade IV ; elles sont plus progressives chez *P. japonicus* où le type de régulation adulte apparaît aussitôt après la métamorphose alors que la capacité d'osmorégulation augmente progressivement jusqu'aux stades PL 5 - PL 6.

5-3-3 Relation entre les capacités osmorégulatrices et la tolérance aux faibles salinités

Chez *P. japonicus*, les larves sont de faibles régulateurs et leur tolérance aux milieux dilués est relativement faible. A la métamorphose, l'osmorégulation change de type pour acquérir celui de l'adulte et la tolérance est minimale. Après cette phase de transition, les capacités osmorégulatrices et la tolérance augmentent progressivement et parallèlement de PL1 à PL5. Ainsi, il existe chez *P. japonicus* une corrélation étroite entre les capacités osmorégulatrices, en particulier l'hyper-régulation dans les milieux dilués, et la tolérance aux faibles salinités. Il en est de même chez *Homarus americanus* : les larves également hyper-osmoconformes sont faiblement tolérantes; la métamorphose conduit à une régulation adulte et la tolérance est plus importante chez les post-larves. Chez deux autres espèces, chez lesquelles les jeunes stades rencontrent des salinités extrêmes dans leur environnement, *M. petersi* (READ, 1984) et *U. subcylindrica* (RABALAIS et CAMERON, 1985), une corrélation assez claire existe aussi entre les capacités osmorégulatrices et la tolérance à la salinité.

Les capacités osmorégulatrices et la tolérance à la salinité apparaissent également liées à l'écologie des différents stades. Chez *P. japonicus*, les larves hyper-osmoconformes, peu tolérantes aux faibles salinités vivent en pleine mer, donc en milieu de salinité relativement stable. Néanmoins, si des variations de salinité surviennent (orages, fortes pluies), on peut supposer que la pression osmotique de l'hémolymphe de ces larves conformatrices suivant celle du milieu, les problèmes d'osmorégulation et de régulation du volume cellulaire sont alors reportés au niveau cellulaire. Des possibilités intéressantes d'étude de la régulation isosmotique intracellulaire (JEUNIAUX *et al*, 1961; SCHOFFENIELS, 1976; GILLES, 1978,1979) existent donc très certainement chez les larves de Pénéides.

(P20) ne conférait pas aux animaux une meilleure résistance aux variations de salinité et de température. Ainsi, dans le cas d'un ensemencement de *P. japonicus*, aux stades PL5 - PL6, les animaux ne demeurent que 22 à 25 jours (après la ponte) en éclosérie, soit une période relativement brève permettant de réduire le coût de l'opération de prégrossissement.

La température n'ayant aucun effet notable sur la survie de *P. japonicus* entre 18 et 25°C, l'ensemencement est donc tout-à-fait possible pendant les périodes printanières, permettant donc une durée de grossissement de 6 mois jusqu'à la récolte automnale.

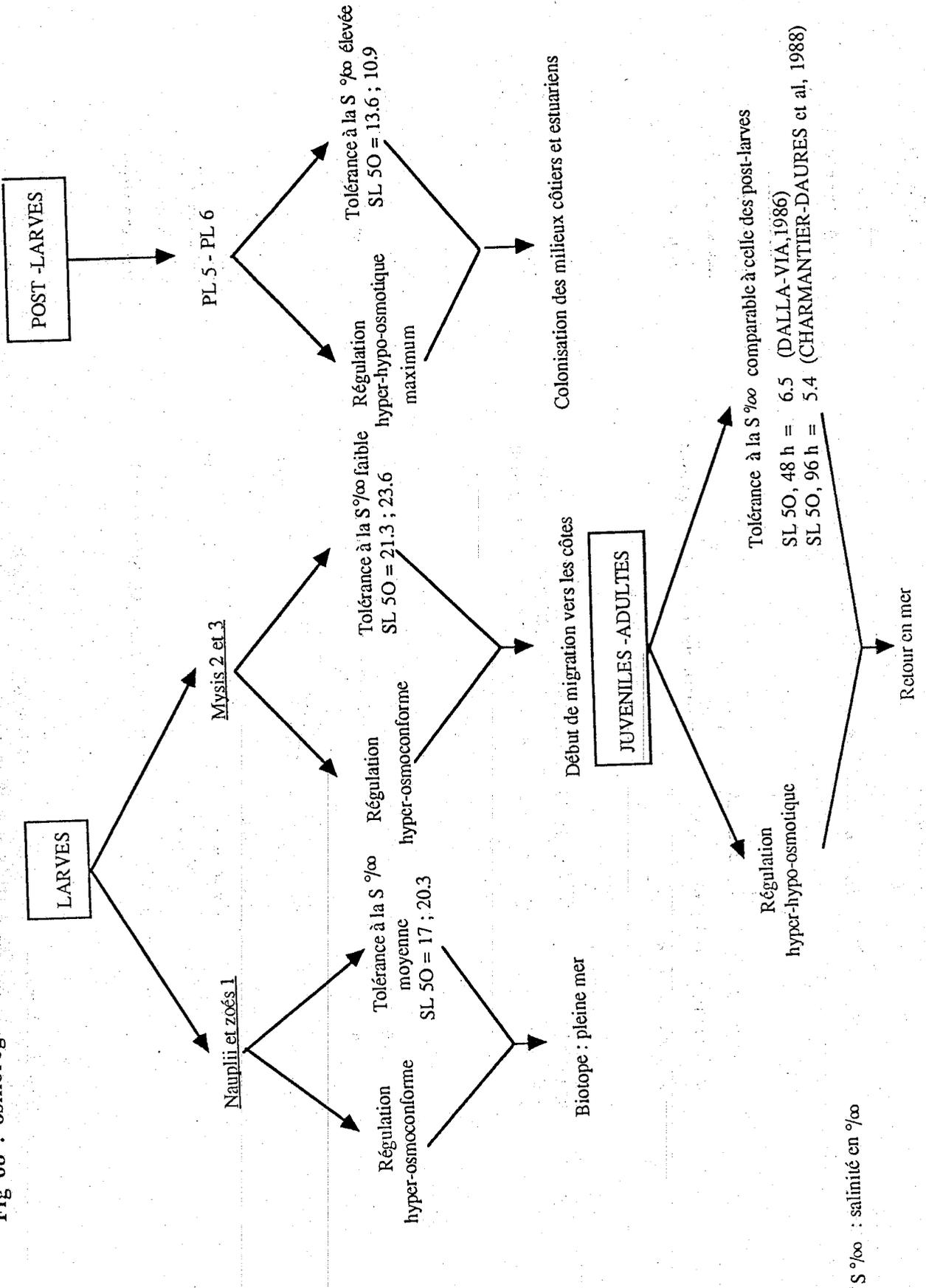
Dans le cas d'un maintien de cet élevage jusqu'à PL10 - PL11 (P20 - P21) pour la phase de prégrossissement comme cela se pratique encore dans certaines écloséries, un obstacle majeur pour l'élevage des espèces tropicales dans les pays tempérés est celui de la nécessité de maintenir des températures élevées impliquant des dépenses importantes. La diminution de la température de 25 à 19-18°C n'entraîne pas d'augmentation de la mortalité chez *P. japonicus* comme c'est le cas chez un grand nombre d'espèces de Pénéides (revue in CHARMANTIER, 1987 b). Dans la mesure où l'impact sur la croissance ne serait pas trop important, de telles températures pourraient être utilisées en élevage, du moins à partir de certains stades de développement, ce qui constituerait une économie appréciable pour des stations aquacoles où l'obtention d'eau à 25°C coûte assez cher.

Les résultats concernant la tolérance aux fortes salinités, bien qu'ils restent préliminaires, montrent de grandes possibilités de survie de *P. japonicus* à partir des jeunes stades post-larvaires (PL10) dans des salinités atteignant 44‰. Ceci laisse entrevoir des perspectives d'exploitation de sites d'anciennes salines comme milieu d'élevage des Pénéides. Des expérimentations complémentaires sont bien entendu nécessaires pour confirmer nos données.

5-4 RESUME (Fig 68)

Chez les stades larvaires jeunes (nauplii et zoé 1), la régulation est très probablement hyper-osmoconforme et la tolérance à la salinité est moyenne.

Fig 68 : osmorégulation et tolérance à la salinité au cours du développement de *Penaeus japonicus*



Chez les stades larvaires plus avancés (mysis 2 et 3), la régulation est toujours de type hyper-osmoconforme ; par contre la tolérance à la salinité est faible.

Chez les stades post-larvaires, la régulation devient de type hyper-hypo-osmotique et la capacité osmorégulatrice atteint un maximum à partir des stades PL5 - PL6.

La métamorphose s'accompagne donc d'importants changements de la physiologie de l'osmorégulation corrélés à des variations de la tolérance à la salinité. Les implications écologiques et appliquées sont discutées.

Chez les stades juvéniles et adultes, la régulation osmotique et la tolérance à la salinité sont comparables à celles des post-larves.

CHAPITRE VI

ACTIVITE DE L'ATPASE Na^+ - K^+ ET DE L'ANHYDRASE CARBONIQUE

6-1 INTRODUCTION

L'ATPase Na^+ - K^+ a été découverte par SKOU (1957) au niveau des nerfs myélinisés du crabe *Carcinus maenas* ; elle catalyse l'hydrolyse de la liaison phosphate terminale de l'ATP avec formation d'ADP, de phosphate inorganique et libération d'énergie, elle est activée par les ions Mg^{2+} , Na^+ et K^+ .

Cette enzyme omniprésente dans les membranes cellulaires a été étudiée chez de nombreux animaux (BONTING, 1970). QUINN et LANE (1966) ont été les premiers à avoir rapporté sa présence dans l'épithélium branchial des Crustacés. Actuellement, il est clairement établi qu'elle joue un rôle fondamental dans les transports ioniques actifs et donc l'osmorégulation chez les animaux aquatiques et en particulier chez les Crustacés (MAETZ, 1974 ; TOWLE, 1981 ; MANTEL et FARMER, 1983 ; TOWLE, 1984 a,b; PEQUEUX et GILLES, 1988). Chez ces animaux, les branchies constituent le site majeur des échanges ioniques et l'enzyme est essentiellement localisée au niveau des membranes basolatérales des cellules épithéliales (TOWLE, 1981; TOWLE *et al*, 1983; TOWLE, 1984 a, b) . Les branchies des Crustacés euryhalins osmorégulateurs présentent une activité ATPasique plus élevée que celle des espèces osmoconformes et le transfert des animaux en milieu dilué entraîne une forte augmentation de l'activité de l'ATPase Na^+ - K^+ chez la première catégorie d'espèces et peu de variation chez la seconde. Donc, les capacités osmorégulatrices apparaissent être en rapport avec le taux d'activité de l'ATPase Na^+ - K^+ et ses variations (TOWLE *et al*, 1976; MANTEL et LANDESMAN, 1977 ; Mc DONOUGH SPENCER *et al*, 1979 ; NEUFELD et PRITCHARD, 1979).

L'anydrase carbonique a été identifiée par MELDRUM et ROUGHTON (1933) dans les érythrocytes de mammifères et a été rapporté pour la première fois dans les tissus d'invertébrés par FERGUSON *et al* (1937). Elle catalyse les réactions d'hydratation et de déshydratation de CO_2 selon l'équation $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$; les ions HCO_3^- et H^+ formés seraient respectivement échangés contre les ions Cl^- et Na^+ . Depuis, sa présence a été mise en évidence dans de nombreux tissus où elle intervient dans des mécanismes variés tels l'ionorégulation et la balance acido-basique (Revue in MAREN, 1967; HENRY et CAMERON, 1983 ; HENRY, 1988 b). Chez les

Arthropodes, les taux les plus élevés de l'activité de l'anhydrase carbonique se trouvent dans les tissus impliqués dans le transport ionique actif (revue in HENRY, 1984) et chez les Crustacés euryhalins, les branchies contiennent les taux d'activité les plus élevés (HENRY et CAMERON, 1982 a; HENRY, 1983).

Il existe de grandes similitudes dans la distribution et la réponse à la salinité entre l'anhydrase carbonique et l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. HENRY et CAMERON (1982 b) ont mis en évidence chez *Callinectes sapidus* une distribution presque identique de ces deux enzymes. La différence essentielle réside néanmoins dans la distribution subcellulaire que présente l'anhydrase carbonique au niveau des cellules épithéliales branchiales. Il apparaît ainsi que cette enzyme présente deux fractions subcellulaires au moins : cytoplasmique et membranaire. L'enzyme associée à la membrane plasmique est potentiellement disponible pour catalyser la déshydratation de l'ion HCO_3^- de l'hémolymphe en facilitant ainsi l'excrétion de celui-ci alors que le rôle de l'enzyme cytoplasmique dans la régulation ionique est confirmée (revue in HENRY, 1988 b).

Les travaux concernant l'activité de ces enzymes chez les Crustacés adultes sont relativement nombreux. Par contre, rares sont ceux concernant les stades larvaires et post-larvaires ; les rares exemples concernent le nauplius d'*Artemia salina* (CONTE, 1984), les différents stades de l'oeuf en développement ainsi que les deux stades zoé de *Callinassa-jamaicense* (FELDER *et al*, 1986) et les larves et post-larves de *Homarus gammarus* (THUET *et al*, 1988).

Il nous a semblé intéressant de mesurer les activités de ces deux enzymes au cours du développement de *Penaeus japonicus* afin de suivre leur évolution et de les corrélérer éventuellement avec l'ontogénèse des tissus et organes osmorégulateurs (branchies, branchiostégite, épipodites, pleure) et avec la tolérance à la salinité et l'osmorégulation que nous avons traitées dans des chapitres précédents (voir discussion générale).

6-2 RESULTATS

6-2-1 Activité de l'ATPase Na^+ - K^+ en fonction du stade de développement.

6-2-1-1 Larves et post-larves entières

Les résultats sont consignés dans le tableau 7 et représentés par la figure 69 B. L'activité enzymatique varie au cours du développement de *P. japonicus*. Elle est nulle chez les nauplii, très faible chez les zoés ($0.19 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$), puis augmente fortement chez les mysis 2 et 3 ($2.86 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$) pour atteindre son maximum entre PL2 et PL8 (environ $4.50 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$), puis décroît à partir de PL8.

6-2-1-2 Post-larves : céphalothorax isolés

Les résultats sont consignés dans le tableau 7 et représentés par la figure 69 A. L'activité enzymatique mesurée chez les post-larves entre les stades PL4 et PL11 varie avec les stades de développement. Elle est maximum chez la post-larve PL5 ($7.25 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$), diminue par la suite à environ $5.50 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ chez les PL6 et les PL8 et augmente à $6.34 \mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ chez les PL 11 mais sans que cette augmentation soit significative.

6-2-1-3 Adultes : branchies, branchiostégite, épipodites

Les résultats sont consignés dans la tableau 8. L'activité enzymatique est très faible au niveau du branchiostégite, elle est importante au niveau des branchies et est très élevée au niveau des épipodites.

6-2-2 Activité de l'anhydrase carbonique

Les résultats concernant l'activité de l'anhydrase carbonique sont consignés dans le tableau 9. Celle -ci ne varie pas au cours du développement de *P. japonicus* du moins

TABLEAU 7

Activité de l'ATPase Na^+ - K^+ en fonction du stade de développement de
Penaeus japonicus

STADE	ATPase Na^+ - K^+ $\mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$		
	Animaux entiers		
Nauplius 1	0.01	± 0.01	(8)
Zoé 1	0.19	± 0.03	(5)
Mysis 2 + 3	2.86	± 0.08	(7)
Mysis 3 + PL1	2.82	± 0.39	(16)
PL2 (P3)	4.10	± 0.46	(7)
PL3 + PL4 (P4)	4.09	± 0.67	(8)
PL8 (P15 - P16)	4.73	± 0.34	(6)
PL15 (P29)	3.45	± 0.12	(6)
Céphalothorax isolés			
PL4 (P8)	4.45	± 0.56	(4)
PL5 (P10)	7.25	± 0.30	(6)
PL6 (P12)	5.27	± 0.42	(8)
PL8 (P15)	5.75	± 0.39	(10)
PL11 (P20)	6.34	± 0.82	(6)

Les valeurs indiquées sont les moyennes ± erreur type (SE). Entre parenthèses, le nombre de mesures. Mysis 2+3 : 50% - 50% ; Mysis 3 + PL1 : 40% - 60% ; PL3 + PL4 : 50% - 50% ; N : nauplius ; Z : zoé ; M : mysis.

Comparaisons statistiques :

* Animaux entiers : N / Z1 : F** ; Z1 / M2 + 3 : F** ; M2 + 3 / M3 + PL1 : NS ; M3 + PL1 / PL2 : F** ; PL2 / PL3 + PL4 : NS ; PL3 + PL4 / PL8 : NS ; PL8 / PL15 : F* .

* Céphalothorax isolés : PL4 / PL5 : F** ; PL5 / PL6 : F** ; PL6 / PL8 : NS ; PL8 / PL11 : NS ; PL5 / PL6 - PL8 - PL11 : F* .

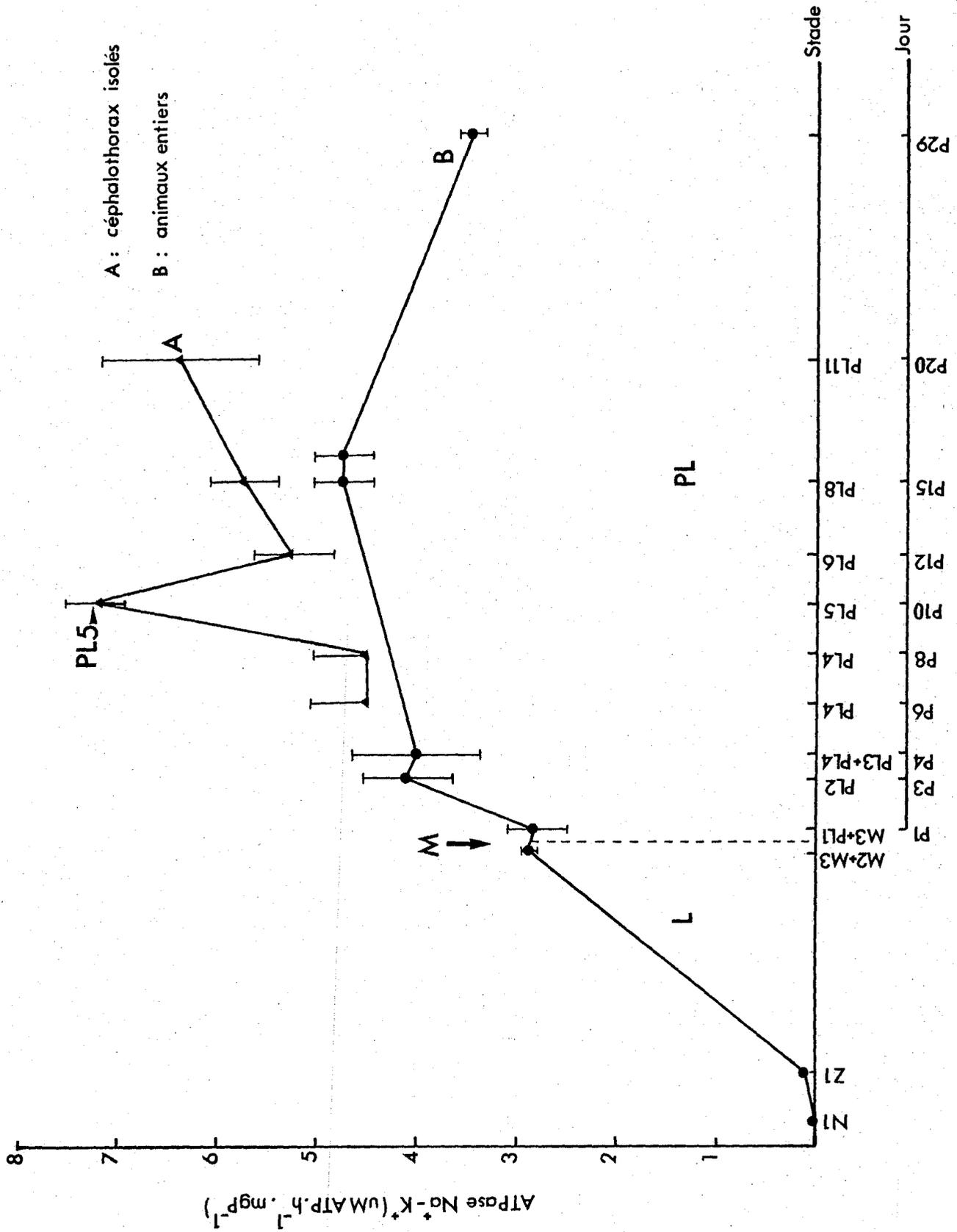


Fig 69 : Activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ en fonction du stade de développement de *Penaeus japonicus* exprimée en $\mu\text{M ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg Protéines}^{-1}$. Chaque point représente la moyenne des mesures faites sur 4 à 16 animaux \pm erreur type.

TABLEAU 8

Activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ au niveau des branchies, du branchiostégite, et des épipodites de l'adulte de *Penaeus japonicus*

TISSU	ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ $\mu\text{M Pi} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$
Branchies	10.35 \pm 2.41 (5)
Branchiostégite	0.26 \pm 0.55 (5)
Epipodites	30.48 \pm 7.67 (5)

Les valeurs indiquées sont les moyennes \pm erreur type (SE). Entre parenthèses le nombre de mesures.

Comparaisons statistiques: Branchies / Branchiostégite: F ** ; Branchiostégite / Epipodites: F ** ; Branchies / Epipodites : F ** .

TABLEAU 9

Activité de l'anhydrase carbonique en fonction du stade de développement de *Penaeus japonicus*

STADE	Anhydrase carbonique $\text{mm}^3 \text{CO}_2 \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$
Nauplius 1	1280 \pm 334 (5)
Zoé 2	927 \pm 97 (5)
Mysis 3	961 \pm 124 (5)
PL1 (P1)	1303 \pm 134 (4)
PL2 (P3)	1310 \pm 24 (4)
PL4 + PL5 (P9)	987 \pm 88 (5)
PL16	1206 \pm 206 (4)

Les valeurs indiquées sont les moyennes \pm erreur type(SE). Entre parenthèses, le nombre de mesures PL 4 + PL 5 - 50% - 50%

Comparaison statistique: [N-Z-M] / [PL1 - PL2 - PL4 + P 5 - PL16] : NS.

jusqu'au stade PL16 puisque l'analyse de variance montre que l'activité enzymatique du groupe (PL1 - PL2 - PL4 + PL5 - PL16) ne diffère pas significativement de celle du groupe (nauplius - zoé - mysis).

6-3 DISCUSSION ET CONCLUSION

6-3-1 Activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$

Dans cette étude, nous n'avons pas détecté d'activité ATPasique chez le nauplius de *P. japonicus* alors qu'au contraire, cette activité apparaît très tôt au cours du développement d'*Artemia salina* : 8 à 12 h après l'hydratation de la gastrula enkystée (PETERSON *et al*, 1978). De plus, CONTE *et al* (1977) ont noté une forte augmentation de l'activité de cette enzyme au stade E 1 (prénauplius émergeant de la coque éclatée). Dès son éclosion, le stade E 2 et le nauplius présentent une forte activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$. Chez *Callinassa jamaicense*, cette activité apparaît également précocement : elle augmente progressivement durant les stades embryonnaires pour atteindre son maximum au moment de l'éclosion de la larve zoé I (de $7.8 \mu\text{mol Pi. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ poids frais à $96.5 \mu\text{mol Pi. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ poids frais). Par la suite, l'activité ATPasique larvaire diminue et se stabilise à $5.6 \mu\text{mol Pi. h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ poids frais (FELDER *et al*, 1986). Chez *Homarus gammarus*, la larve de type I qui sort de l'oeuf, présente une activité ATPasique significative $2.8 \mu\text{mol ATP. h}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ (THUET *et al*, 1988).

Il est intéressant de rapprocher ces résultats de l'écologie et de l'osmorégulation de ces espèces. Le nauplius de *P. japonicus* éclot en mer là où la salinité est relativement stable et son osmorégulation est du type hyper-osmoconforme. Celui d'*Artemia* naît dans des milieux concentrés (marais salants) et présente un fort pouvoir hypo-régulateur (CONTE *et al*, 1972) ; *Callinassa* vit dans des terriers estuariens et sa larve zoé I est soumise à des salinités basses et variables dès son éclosion. Celle-ci a une osmorégulation de type hyper-osmoconforme en eau de mer et hyper-osmotique en milieu dilué. Chez *Homarus*, l'éclosion se produit dans les zones côtières à salinité plus ou moins variable, mais la larve est hyper-osmoconforme. D'une manière générale, il semble que chez les espèces où l'éclosion se produit dans des eaux très concentrées ou soumises à des variations de salinité, les premières formes larvaires présentent une capacité osmorégulatrice ainsi qu'une activité importante de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.

Chez les post-larves entières, l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ n'augmente pas entre les stades PL1 et PL5 alors que les capacités osmorégultrices augmentent fortement au cours de cette période. Cette stabilité de l'activité (qui est exprimée par rapport aux protéines) pourrait être expliquée par le développement important de l'abdomen très riche en muscles. Cet enrichissement massif en protéines des homogénats masquerait l'augmentation de l'activité enzymatique qui se produirait durant cette période. Cette hypothèse nous a amenés à étudier l'activité des céphalothorax isolés. Dans ce cas, une importante activité ATPasique est détectée chez les stades post-larvaires avec une activité maximum à PL 5.

La mise en place des structures histologiques telles que tissus ou organes osmorégulateurs peut expliquer une certaine activité ATPasique. Ainsi, le nauplius d'*A. salina* possède sur la face dorsale une glande dont l'ultrastructure des cellules rappelle indiscutablement celle des tissus transporteurs d'ions (CONTE *et al*, 1972). Cette espèce possède à ce stade une importante activité ATPasique (RUSSLER et MANGOS, 1978). De même, les zoés de *C. jamaicense* sont dépourvues de branchies et l'osmorégulation est probablement assurée par la face interne du branchiostégite et par la pleure qui présentent l'ultrastructure des tissus osmorégulateurs. Ces jeunes stades possèdent une activité ATPasique significative (FELDER *et al*, 1986). Chez *P. japonicus* adulte, les branchies et épipodites dotés de caractères ultrastructuraux typiques des tissus osmorégulateurs présentent une importante activité ATPasique. Les branchies sont, par comparaison avec les épipodites, relativement peu différenciées et ont une activité ATPasique plus faible. Néanmoins, cette différence est relative puisque l'activité est exprimée par mg de protéines. Les épipodites sont constitués uniquement de 2 couches épithéliales séparées par des lacunes hémolympatiques, alors que dans les branchies, un réseau composé de cellules conjonctives et glandulaires est interposé entre ces couches. La quantité relative des protéines est donc probablement plus élevée dans les branchies. De plus, grâce à leurs lamelles et surtout leurs filaments et à leur nombre important (18 par cavité branchiale), ces organes présentent une surface d'échange beaucoup plus importante que celle des épipodites (6 par cavité branchiale). Chez l'adulte de *P. japonicus*, les branchies constituent donc très probablement le site majeur de l'osmorégulation comme chez la majorité des Crustacés.

De la même manière, nous pouvons rapprocher la disparition des structures

dans cette étude nous ne dissociions pas les deux pool enzymatiques et que les mesures sont effectuées sur des animaux entiers qui se trouvent en eau de mer, il se pourrait que dans ces conditions expérimentales, l'augmentation branchiale de l'activité de l'anhydrase carbonique à localisation cytoplasmique ait été masquée chez les stades post-larvaires de *P. japonicus*.

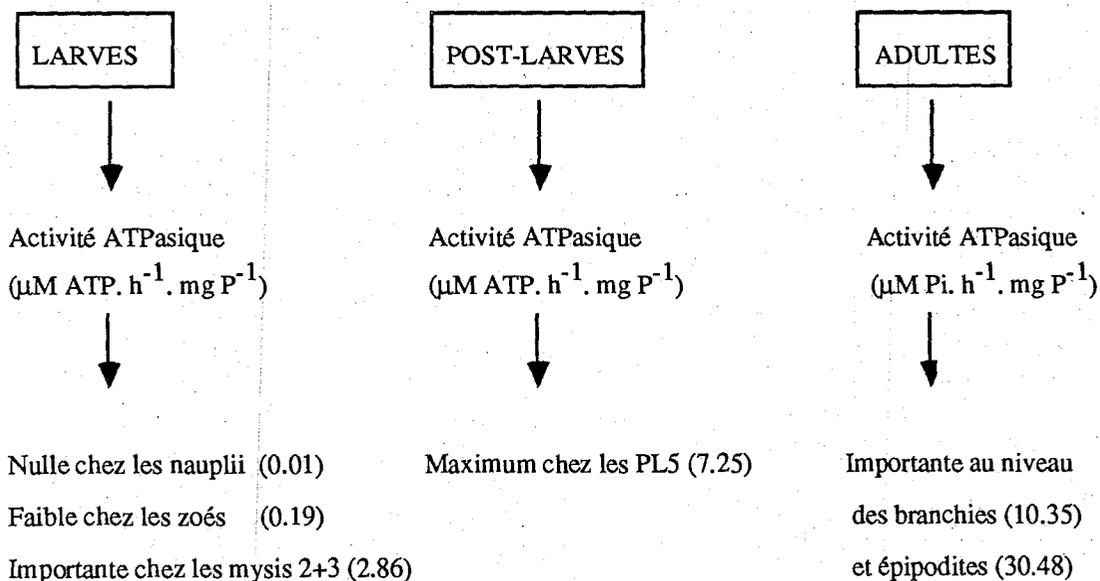
En conclusion générale, l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ varie au cours du développement de *P. japonicus* : nulle chez les stades nauplii, faible chez les stades zoés, elle augmente progressivement par la suite et atteint un maximum chez les stades post-larvaires PL5.

L'activité de l'anhydrase carbonique ne semble pas varier chez les stades étudiés, son implication est donc incertaine dans l'osmorégulation des jeunes stades de *P. japonicus*.

Dans la discussion générale, nous essayerons de rapprocher ces résultats des données obtenues dans les chapitres précédents.

6-4 RESUME

Les variations de l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ au cours du développement de *Penaeus japonicus* sont représentées comme suit :



osmorégulatrices et l'absence d'activité ATPasique. Ainsi, le branchiostégite de *P. japonicus* adulte qui a perdu ses caractères ultrastructuraux de tissu osmorégulateur au cours de l'ontogénèse ne possède pas d'activité ATPasique.

6-3-2 Activité de l'anhydrase carbonique

Dans cette étude, nous n'avons pas constaté de variation de l'activité de l'anhydrase carbonique au cours du développement de *Penaeus japonicus*.

Chez les stades larvaires, contrairement à ce que nous avons observé pour l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, l'activité de l'anhydrase carbonique n'augmente pas du stade nauplius au stade mysis. A notre connaissance les seules données qui nous permettent d'établir une comparaison sont celles concernant *Homarus gammarus* (THUET *et al*, 1988). Chez cette espèce, les stades larvaires présentent en eau de mer une augmentation significative de l'activité de cette enzyme qui passe de $379 \pm 52 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2 \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ au stade I à $755 \pm 63 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2 \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ au stade II, de même au niveau des branchies, l'activité passe de $5168 \pm 2120 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2 \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ pour le stade III à $14269 \pm 1490 \text{ mm}^3 \text{ CO}_2 \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg P}^{-1}$ pour le stade IV, qui est le premier stade post-larvaire après la métamorphose et qui présente le type d'osmorégulation adulte (THUET *et al*, 1988).

Chez les stades post-larvaires de *P. japonicus*, les mesures effectuées entre PL1 et PL16 ne montrent pas de différences significatives et ne sont pas plus élevées que celles obtenues chez les stades larvaires. On pourrait donc éventuellement en conclure que l'anhydrase carbonique ne joue pas de rôle dans l'acquisition des capacités osmorégulatrices de l'adulte. Cependant, comme pour l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, du fait que les mesures ont été effectuées sur des animaux entiers et que l'activité est exprimée par rapport aux protéines, le développement de l'abdomen riche en muscles peut masquer une augmentation de l'activité branchiale. De plus, HENRY(1988 a) a montré au niveau des branchies de *Callinectes sapidus* l'existence de deux pool d'anhydrase carbonique, l'un étant localisé au niveau des membranes basolatérales et l'autre dans le cytoplasme des cellules branchiales. L'enzyme à localisation basolatérale est très peu sensible aux variations de salinité et son rôle serait de faciliter l'excrétion de CO_2 . L'enzyme cytoplasmique est au contraire très sensible aux variations de salinité, et son activité augmente en milieu dilué et elle serait impliquée dans les échanges ioniques. Comme,

**DISCUSSION ET CONCLUSION
GENERALES**

Des corrélations peuvent être établies entre le niveau d'activité ATPasique et les capacités osmorégulatrices des différents stades larvaires et post-larvaires.

Notre travail sur l'espèce *Penaeus japonicus* traite principalement de l'ontogénèse de l'osmorégulation associée à la tolérance à la salinité ; il n'aurait pu être complet sans une étude préalable de l'ontogénèse des structures osmorégulatrices et sans celle de l'activité de deux enzymes impliquées dans l'osmorégulation ; l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ et l'anhydrase carbonique. Les principaux résultats obtenus dans les trois parties de ce mémoire sont résumés dans le tableau 10.

Cette étude a été conduite dans un but essentiellement fondamental afin de contribuer à une meilleure connaissance de la biologie de *Penaeus japonicus*, particulièrement de sa fonction osmorégulatrice et des changements qui accompagnent la métamorphose. Celle-ci constitue une phase de transition relativement peu connue sur le plan physiologique chez les Crustacés. Des résultats appliqués pouvaient également être attendus de notre étude contribuant ainsi à l'amélioration de l'élevage de cette espèce dont l'intérêt économique augmente dans le monde et en France.

A quel moment du développement post-embryonnaire apparaissent les capacités osmorégulatrices chez *P. japonicus* ? Cette apparition peut-elle être reliée à la mise en place des structures osmorégulatrices ? comment se manifestent ces capacités et comment se traduisent-elles dans le milieu ? Nous avons essayé de répondre à ces questions en suivant chaque phase du cycle de développement de *P. japonicus* (larves, post-larves, juvéniles-adultes).

Les structures osmorégulatrices sont apparemment absentes chez les nauplii et les zoés 1 et leur absence semble expliquer celle de l'activité ATPasique. En effet, l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ est essentiellement localisée au niveau des membranes basolatérales des épithéliums transporteurs d'ions (TOWLE, 1981 ; TOWLE *et al*, 1983 ; TOWLE, 1984 a, b ; TOWLE et KAYS, 1986) inexistantes chez ces jeunes stades.

Les tissus osmorégulateurs sont en place chez les mysis 2 et 3 et se localisent alors au niveau de la chambre branchiale tapissant à la fois la face interne du branchiostégite et la pleure. A côté de ces tissus, apparaissent les premiers rudiments branchiaux et les premiers épipodites. L'activité ATPasique augmente fortement par rapport aux stades précédents.

TABLEAU 10 : Résumé des principaux résultats

STADE	Structures osmorégulatrices TO + OO	SL 50, 24 h (∞), 25°C	Gradient osmotique HL-ML (mosm.Kg ⁻¹) et type de régulation	Activité ATPasique ($\mu\text{M ATP.h}^{-1}$ mgP^{-1} ou $\mu\text{M Pi.h}^{-1}.\text{mgP}^{-1}$) Animaux entiers Céphalothorax isolés
Nauplius	Absentes	17		0.01
Zoé 1	Absentes	20.3		0.19
Zoé 2	TO apparaissant au niveau du branchiostégite et de la pleure	21.3	1 : + 13 2 : + 12 Hyper-osmoconforme	
Zoé 3	TO	19	1d : + 6 2d : + 12 1f : + 31 2f : + 31 Hyper-osmoconforme	
Mysis 1	TO + apparition de rudiments branchiaux (4)	20.8	1 : + 28 2 : + 44	
Mysis 2	TO + branchies (4 + 4 rudiments) + apparition des épipodites (2)	21.3	1 : 0 2 : + 19 Hyper-osmoconforme	Mysis 2 + 3 (50% - 50%) 2.86
Mysis 3	TO + branchies (8 + 1 rudiment) + épipodites (2)	23.6	1 : 100 % mortalité 2 : + 2 Hyper-osmoconforme	Mysis 3 + PL1 (40% - 60%) 2.82
PL1	TO + branchies (9) + épipodites (2)	d : 24.6 f : 21.3	1d : 100 % mortalité 2d : + 22 1f : 100 % mortalité 2f : - 20 Hyper-hypo-régulation	
PL2	TO + branchies (11) + épipodites (2)	20.5	1 : 100 % mortalité 2 : - 38 Hyper-hypo-régulation	4.10

PL3	TO + branchies (11) + épipodites (2)	17.8	1 : 100 % 2 : - 38	mortalité Hyper-hypo-régulation	PL3 + PL4 (50% - 50%) 4.09
PL4	TO + branchies (15) + épipodites (2)	d : 17.8 f : 16.1	1d : + 150 2d : - 113 1f : + 169 2f : - 125	Hyper-hypo-régulation	4.45
PL5	TO + branchies (15) + épipodites (2)	13.6	1 : + 250 2 : - 200	Hyper-hypo-régulation adulte	7.25
PL6	TO + branchies (16) + épipodites (5)	10.3	1 : + 244 2 : - 206	Hyper-hypo-régulation	5.27
PL7	TO + branchies (17) + épipodites (5)				
PL8	TO + branchies (18) + épipodites (5)	7.5	1 : + 256 2 : - 213	Hyper-hypo-régulation	4.73
PL9	TO + branchies + épipodites (5)				
PL10	TO + branchies + épipodites (5)	6.6	1 : + 244 2 : - 200	Hyper-hypo-régulation	6.34
PL11	TO + branchies + épipodites (6)				
PL15	TO + OO				3.45
Juv - Ad	TO disparaissent OO persistent		Juv 1 : + 230 2 : - 170 Ad 1 : + 180 2 : - 140	CHARMANTIER-DAURESet al 1988	Branchies Branchiostégite Epipodite 10.35 0.26 30.48

PL : post-larves ; Juv-Ad : Juvénile-adulte ; TO : Tissu osmorégulateur ; OO : organe osmorégulateur ; d : début ; f : fin ; HL : hémolymphe ;
ML : milieu ; 1 : milieu à 500 mos. Kg⁻¹ ; 2 : milieu à 1100 mosm. Kg⁻¹.

Deux nouvelles branchies apparaissent dans chaque cavité branchiale lors de la phase de transition, au cours du passage de mysis 3 à PL1, et une augmentation hautement significative de l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ est notée à partir du stade PL2.

Les tissus osmorégulateurs persistent et des branchies et épipodites nouveaux se mettent au fur et à mesure en place chez les stades post-larvaires suivants. C'est ainsi que 4 branchies apparaissent en une seule fois dans chaque cavité branchiale chez les PL4 ; le nombre de ces organes passe à 15 chez les PL5, 16 chez les PL6 (par cavité branchiale) ; il est presque au complet puisqu'il y a 18 paires de branchies chez les adultes. Les épipodites qui présentent des tissus osmorégulateurs très différenciés passent de 2 à 5 chez les PL6 (il y a 6 paires d'épipodites chez les adultes). L'activité ATPasique est d'autre part maximum chez les PL5 et reste importante en PL6.

L'épithélium différencié du branchiostégite et de la pleure semble ne plus exister chez les juvéniles et les adultes, les épipodites restent hautement différenciés et les branchies possèdent les structures des tissus osmorégulateurs. L'activité ATPasique est par ailleurs importante au niveau de ces organes.

Ainsi, nous pouvons dire d'une manière générale que l'augmentation de l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ peut être clairement liée à l'installation progressive des structures osmorégulatrices. Chez les stades larvaires (mysis 2 et 3), l'augmentation d'activité de cette enzyme pourrait être mise en relation avec l'augmentation de surface des tissus osmorégulateurs déjà en place (épithélium du branchiostégite et de la pleure) et surtout l'apparition des épipodites précocement différenciés, contrairement aux branchies qui se présentent sous forme de rudiments à ces stades et ne semblent pas posséder de différenciation typique de tissus osmorégulateurs. Chez les stades post-larvaires (PL1 à PL5 - PL6), l'augmentation significative de l'activité ATPasique pourrait également être liée au développement ontogénique des branchies et des épipodites bien que les premières ne semblent toujours pas être différenciées à ces stades.

L'osmorégulation est du type hyper-osmoconforme chez les jeunes larves nauplii et zoés 1. Ces faibles capacités osmorégulatrices peuvent être mises en relation avec l'absence des structures osmorégulatrices et d'activité ATPasique. La régulation reste du type hyper-osmoconforme chez les stades mysis malgré l'augmentation significative de l'activité enzymatique ; les larves mysis 2 et 3 ne sont pas hyper-régulatrices quand elle sont placées

en milieu dilué. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la valeur d'équilibre de la pression osmotique de l'hémolymphe résulte de l'action de différents facteurs parmi lesquels nous pouvons citer la perméabilité aux ions des épithéliums d'échange et le rapport volume surface de l'organisme. Ainsi, une éventuelle augmentation du flux entrant de sodium lié à une élévation de l'activité enzymatique, n'entraîne pas inéductiblement une hausse du niveau de la pression osmotique de l'hémolymphe en milieu dilué.

La régulation devient hyper-hypo-osmotique à partir de PL1. L'intensité de l'hyper et de l'hypo-régulation augmente progressivement pour atteindre un maximum à PL5 - PL6. Donc à une régulation de type larvaire hyper-osmo conforme succède une régulation de type post-larvaire hyper-hypo-osmotique identique à celle de l'adulte.

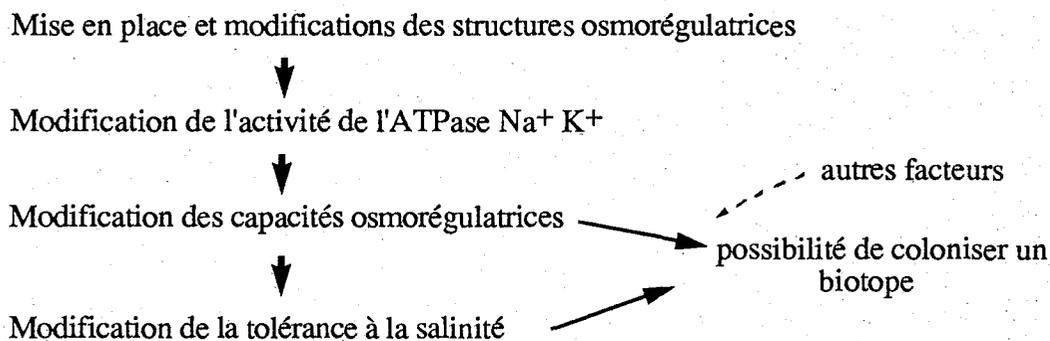
De même que des corrélations pouvaient être établies entre l'absence de structures osmorégulatrices et l'absence ou la faible activité ATPasique d'une part et la régulation larvaire d'autre part, on peut noter que la régulation de type hyper-hypo-osmotique ne se développe chez les post-larves que lorsque les structures osmorégulatrices et un certain niveau d'activité ATPasique existent. Rappelons que les branchies ne semblent pas être différenciées à ces stades, mais le fait que nous n'ayons pas observé de tissu osmorégulateur au niveau de ces organes ne permet pas de conclure à leur non intervention dans la mise en place de la régulation adulte. En effet, si pour ces stades, le tissu osmorégulateur est peu développé, il a pu échapper à nos investigations. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse selon laquelle l'acquisition du type d'osmorégulation de l'adulte dépend entre autre de la présence des tissus osmorégulateurs (branchiostégite et pleure) ainsi que des épipodites et peut être des branchies. Mais, à la suite de nos nombreuses observations de branchies, il est également possible de conclure que ces organes n'interviennent peut être pas dans l'installation de l'osmorégulation adulte durant ces stades.

La tolérance à la salinité est moyenne chez les nauplii et les zoés 1. Elle tend à diminuer à l'approche de la fin de la phase larvaire chez les mysis; elle est minimum au moment de la métamorphose. Cette faible tolérance persiste pendant le stade suivant, PL1. Une situation comparable a été observée chez *Homarus americanus* lors de la mue de métamorphose entre les stades III et IV (CHARMANTIER *et al*, 1988). Chez *P. japonicus*, la tolérance augmente par la suite progressivement à partir de PL2 pour atteindre un niveau élevé à partir de PL5 - PL6. Cette augmentation rapide des capacités de survie qui se manifeste pendant cette période est vérifiée également à différentes températures (25,

19,15°C). La tolérance à la salinité chez les juvéniles et adultes est comparable à celle des post-larves. L'augmentation de la tolérance à la salinité est à mettre en relation avec l'accroissement des capacités osmorégulatrices qui se manifestent toutes deux entre PL2 et PL5 - PL6.

Le cycle de développement de *P. japonicus* s'accompagne de migrations qui impliquent des changements de milieu et donc de salinité. Suivant le stade, il est intéressant de mettre en relation les capacités de survie et le biotope de l'espèce. Ainsi, les stades les moins tolérants à la salinité sont les stades larvaires qui vivent en mer et ne subissent que peu de variations de salinité sauf précipitations importantes. Dans ce cas, on peut supposer que les mécanismes de régulation isosmotiques intracellulaires sont mis à contribution. Par contre, chez les stades post-larvaires, l'augmentation de la tolérance à la salinité est concomitante de l'approche des côtes. Ces stades à forte capacité hyper-hypo-régulatrice et à tolérance élevée aux variations de salinités sont confrontés dans les estuaires ou les lagunes côtières à des fluctuations importantes de salinité. Les juvéniles conservent une tolérance à la salinité comparable à celle des post-larves lorsqu'ils retournent en mer, de même que plus tard les adultes.

En conclusion, nous pouvons dire que des corrélations étroites peuvent être établies entre la mise en place des structures osmorégulatrices, les mécanismes physiologiques de l'osmorégulation et l'écologie de *P. japonicus* au cours de son développement post-embryonnaire. Ces corrélations sont représentées par le schéma suivant :



Certains de nos résultats ont des implications en aquaculture, en particulier dans deux domaines :

* une attention et une surveillance particulière sont nécessaires dans les écloséries en ce qui concerne les stades pré et post-métamorphiques qui sont les moins tolérants à la salinité.

* l'ensemencement dans le milieu d'élevage est possible à partir des post-larves PL5 - PL6 qui dotées de structures osmorégulatrices et de capacités régulatrices efficaces sont alors suffisamment résistantes aux variations potentielles de salinité.

Nos résultats apportent enfin des éléments nouveaux à la connaissance des processus métamorphiques chez les Crustacés. La métamorphose est une étape importante chez les Crustacés à développement indirect, marquant la fin de la vie larvaire et le début de la vie post-larvaire. Elle est caractérisée par de profonds remaniements tissulaires qui aboutissent à des changements divers. Chez *Penaeus japonicus*, des changements morphologiques se produisent progressivement depuis les stades nauplii jusqu'aux stades PL10 où est atteinte la morphologie de l'adulte (HUDINAGA, 1942). C'est au cours de ces stades que des modifications de comportement apparaissent également dont le plus important est la transition de l'état planctonique à l'état benthique. En effet, 4 à 5 jours après la métamorphose, le comportement des post-larves se modifie graduellement ; elles deviennent benthiques s'enfouissant dans le substrat et dès cette étape est acquis le mode vie des adultes caractérisé par une faible mobilité le jour et une activité nocturne intense. Cette phase s'achève vers le stade PL5 (LAUBIER, 1986). Dans notre étude, nous avons montré que des modifications physiologiques interviennent également entre les stades mysis et les stades post-larvaires concernant particulièrement l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ et les capacités osmorégulatrices. Ces changements de caractères post-larvaires correspondent bien à une métamorphose selon les définitions basées sur la morphologie et l'anatomie (SNODGRASS, 1956 ; PASSANO, 1961), sur le comportement et la physiologie (COSTLOW, 1968 ; WENNER, 1985). Chez *P. japonicus*, la métamorphose est progressive, ce qui peut être mis en rapport avec le grand nombre des stades larvaires (12) et des stades post-larvaires. Ceci la différencie d'autres espèces telle que le homard dont les stades larvaires sont moins nombreux (3) et à métamorphose soudaine conduisant à un seul stade post-larvaire (CHARMANTIER, 1987 a ; CHARMANTIER *et al*, 1988). Chez cette espèce, l'osmorégulation de type adulte est acquise rapidement dès le premier stade post-larvaire (THUET *et al*, 1988).

Enfin, nos travaux font apparaître la nécessité d'une poursuite des études dans ces domaines :

* l'étude de l'ontogénèse des tissus osmorégulateurs mériterait d'être continuée chez *P. japonicus* surtout sur le plan des branchies et sur d'autres espèces.

* il serait également intéressant de poursuivre des travaux sur l'ontogénèse de l'osmorégulation, afin, en particulier d'établir chez d'autres espèces les possibles relations entre capacités osmorégulatrices et tolérance à la salinité d'une part, et entre métamorphose et osmorégulation d'autre part.

* l'étude de la métamorphose physiologique des Crustacés n'en est qu'à ses débuts. Un vaste champ d'investigations est ouvert, aussi bien en ce qui concerne les modifications physiologiques liées à la métamorphose que le contrôle de cette dernière.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- ANONYME.** 1990 - Réunion des producteurs de Pénéides, Nantes 15-16 Février 1990. Bilan national crevettes Pénéides. 17 pp.
- ALCOCK.** 1906 - Catalogue of the Indian Decapod Crustacea in the collection of the Indian Museum, part 3 Macrura (Penaeus).
- ALI, M.** 1966 - The histology and fine structure of the gills of *Carcinus maenas* L, and other Decapod Crustacea. Ph D.Thesis, University of Newcastle upon Tyne, England.
- ALLEN, E.** 1892 - On the minute structure of the gills of *Palaemonetes varians*. Q. J. Microsc. Sci. 34 : 75-84.
- AQUACOP.** 1975 - Maturation and spawning in captivity of Peneid shrimp : *Penaeus merguensis* de Man, *Penaeus japonicus* Bate, *Penaeus aztecus* Ives, *Metapenaeus ensis* De Haan and *Penaeus semisulcatus* De Haan. Proceed. World Maricult. Soc. 6. Ed : AVAULT, J.W. Louisiana State University, Baton Rouge : 123 pp.
- AQUACOP.** 1983 - Penaeid larval rearing in the Centre Océanographique du Pacifique. In : Handbook of Mariculture. Crustacean Aquaculture. Ed : MC'VEY, J.P. CRC Press. 1 : 123 pp.
- ARANA, M.F.** 1974 - Experiencias sobre el cultivo del langostino *Macrobrachium americanum* Bate en el noroeste de Mexico. VI Actas del simposio de Montevideo, la acuicultura en America Latina , FAO Informes de Pesca . 159 : 139-147.
- AZIZ, K.A., GREENWOOD, J.G.** 1981 - A laboratory investigation of temperature and salinity tolerances of juveniles *Metapenaeus bennettiae* Racek and Dall. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 54 : 137-147.
- BABULA, A.** 1979 - Structure of the respiratory organs of the fresh water isopod *Asellus aquaticus* L. (Crustacea). Bull. Soc. Amis Sci, Lettres, Poznan. 19 : 75-82.
- BABULA, A., BIELAWSKI, J.** 1976 - Ultrastructure of respiratory epithelium in the terrestrial isopod *Porcello scaber* Latr. (Crustacea). Annls Med. Sect. Pol. Acad. Sci. 21: 7-9.
- BALLARD, B.S., ABBOTT, W.** 1969 - Osmotic accomodatio in *Callinectes sapidus* Rathbun. Comp. Biochem. Physiol. 29 : 671-687.
- BARNARD, K.H.** 1950 - Descriptive catalogue of the South Africa Decapod Crustacea (crabs and shrimps). Annls. S. Afr. Mus. 38 : 1-837.
- BARRA, J.A., PEQUEUX, A., HUMBERT, W.** 1983 - A morphological study on gills of a crab acclimated to fresh-water. Tissue Cell. 15 : 583-596.
- BATE, C.S.** 1888 - Crustacea Macrura. Rept. Sci. Res. Voy. H.M.S. "Challenger": 1-24.
- BEAMS, H.W., ANDERSON, E., PRESS, N.** 1956 - Light and electron microscopic studies on the cells of the distal portion of the crayfish nephron tubule. Cytologia. 21 : 50-59.

- BEAMS, H.W., TAHMISIAN, T.N., DEVINE, R.L.** 1955 - Electron microscopic studies on the cells of the Malpighian tubules of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae). *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1 : 197-202.
- BEARDEN, C.M.** 1961 - Notes on postlarvae of commercial shrimp (*Penaeus*) in South Carolina. *Cont. Bears Bluff Lab.* 33 : 1-8.
- BERRIDGE, M.J., GUPTA, B.L.** 1967 - Fine structural changes in relation to ion and water transport in the rectal papillae of the blowfly *Calliphora*. *J. Cell. Sci.* 2 : 89-112
- BERRIDGE, M.J., OSCHMAN, J.O.** 1972 - Transporting epithelia. Academic Press., New-York : 91 pp.
- BIELAWSKI, J.** 1971 - Ultrastructure and ion transport in gill epithelium of the crayfish *Astacus leptodactylus* Esch. *Protoplasma.* 73 : 177-190.
- BLASZKOWSKI, C., MOREIRA, G.S.** 1986 - Combined effects of temperature and salinity on the survival and duration of larval stages of *Pagurus criniticornis* (Dana) (Crustacea, Paguridae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 103 : 77-86.
- BOCK, F.** 1925 - Die respirations Organe von *Potamobius astacus* Leach. (*Astacus fluviatilis* Fabr.). Ein Beitrag zur Morphologie der Decapoden. *Z. Wiss. Zool.* 124 : 51-117.
- BONTING, S.L.** 1970 - Sodium- potassium activated adenosine triphosphatase and cation transport. In : Membranes and ion transport. Ed : BITTAR, E.E., Wiley Interscience, London. 1 : 257-363.
- BORRODAILLE, L.A.** 1922 - On the mouthparts of the shore crab, *Carcinus maenas*. *J. Linn. Soc. Lond. (Zool.)*. 35 : 115-142.
- BROAD, A.C.** 1957 - Larval development of *Palaemonetes pugio* Holthius. *Biol. Bull.* 112 : 144-161.
- BROEKEMA, M.M.M.** 1941 - Seasonal movements and the osmotic behaviour of the shrimp *Crangon crangon* L. *Archs Neerl. Zool.* 6 : 1-100.
- BROEKHUYSEN, G.J.Jr.** 1936 - On development, growth and distribution of *Carcinides maenas* (L.). *Archs Neerl. Zool.* 2 : 257-399.
- BUBEL, A.** 1976 - Histological and electron microscopical observations on the effects of different salinities and heavy metal ions, on the gills of *Jaera nordmanni* (Rathke) (Crustacea, Isopoda). *Cell Tissue Res.* 167 : 65-95.
- BUBEL, A., JONES, M.B.** 1974 - Fine structure of the gills of *Jaera nordmanni* (Rathke) (Crustacea, Isopoda). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 54 : 737-743.
- BUCHANAN, F.** 1889 - On the ancestral development of the respiratory organs in the Decapoda Crustacea. *Quart. J. Microsc. Sci.* 457-467.
- BULGER, R.E.** 1963 - Fine structure of the rectal (salt-secreting) gland of the spiny dogfish, *Squalus acanthius*. *Anat. Rec.* 147 : 95-127.

- BURGGREN, W.W., Mc MAHON, B.R., COSTERON, J.W.** 1974 - Branchial water-and blood-flow patterns and the structure of the gills of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Can. J. Zool.* 52 : 1511-1518.
- CALMAN, W.T.** 1909 - Crustacea. In : A treatise on zoology. Ed : LANKESTER, R. Ray Society London. 7 : 1-346.
- CASTILLE, F. L. Jr., LAWRENCE, A.L.** 1981 - A comparison of capabilities of juvenile and adulte *Penaeus setiferus* and *P. stylirostris* to regulate the osmotic sodium and chloride concentrations in the hemolymph. *Comp. Biochem. Physiol.* 68 A : 677-680.
- CAWTHORNE, D.F., BEARD, T., DAVENPORT, J., WICKINS, J.F.** 1983 - Responses of juvenile *Penaeus monodon* Fabricius to natural and artificial sea waters of low salinity. *Aquaculture.* 32 : 165-174.
- CHARMANTIER, G.** 1987a - Le développement larvaire et la métamorphose chez les homards (Crustacea , Decapoda). *Oceanis.* 13 : 137-165.
- CHARMANTIER, G.** 1987b - L'osmorégulation chez les crevettes Penaeidae. *Oceanis.* 13 : 179-196.
- CHARMANTIER, G., BOUARICHA, N., CHARMANTIER-DAURES, M., THUET, P., TRILLES, J.P., EQUIPE MEREIA de Palavas.** 1987 - Tolérance à la salinité au cours du développement larvaire et post-larvaire de *Penaeus japonicus*. *Equinoxe.* 17 : 20-22.
- CHARMANTIER, G., CHARMANTIER-DAURES, M., AIKEN, D.E.** 1981 - Contrôle neuro-endocrine de la régulation osmotique chez les juvéniles et les larves de *Homarus americanus* H. Milne-Edwards. 1837. *C. R. Acad. Sci. Ser. C.* 293 : 831-834.
- CHARMANTIER, G., CHARMANTIER-DAURES, M., AIKEN, D.E.** 1984a - Variations des capacités osmorégulatrices des larves et post-larves de *Homarus americanus* H. Milne-Edwards, 1837 (Crustacea, Decapoda). *C. R. Acad. Sci. Paris.* 299 : 863-866.
- CHARMANTIER, G., CHARMANTIER-DAURES, M., BOUARICHA, N., THUET, P., AIKEN, D.E., TRILLES, J.-P.** 1988 - Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two Decapods Crustaceans : *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull.* 175 : 102-110.
- CHARMANTIER, G., THUET, P., CHARMANTIER- DAURES, M.** 1984b - La régulation osmotique et ionique chez *Homarus gammarus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 75 : 191-199.
- CHARMANTIER-DAURES, M., THUET, P., CHARMANTIER, G., TRILLES, J.-P.** 1988 - Tolérance à la salinité et osmorégulation chez les post-larves de *Penaeus japonicus* et *P. chinensis*. Effet de la température. *Aquat. Liv. Res.* 1 : 267-276.
- CHEN, P.S.** 1933 - Zur Morphologie und Histologie der respirations Organe von *Grapsus grapsus* L. *Jena. Z. Naturw. N.F.* 61 : 31-88.

- CHOUDHURY, P.C.** 1970 - Complete larval development of the Palaemonid shrimp *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann), reared in the laboratory. *Crustaceana*. 18 : 113-132.
- CHOUDHURY, P.C.** 1971 - Responses of larval *Macrobrachium carcinus* to variations in salinity and diet. *Crustaceana*. 20 : 113-120.
- CHUO, K.H., SO, B.S.H.** 1987 - Changes in salinity tolerance during larval development of the shrimp *Metapenaeus ensis* (De Haan). *Asian Mar. Biol.* 4 : 41-48.
- COMPERE, Ph., WANSON, S., PEQUEUX, A., GILLES, R., GOFFINET, G.** 1989 - Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Carcinus maenas* in relation to the external salinity. *Tissue Cell*. 21 : 299-318.
- CONTE, F.P.** 1984 - Structure and fonction of the Crustacean larval salt gland. *Int. Rev. Cytol.* 91 : 45-106.
- CONTE, F.P., DROUKAS, P.C., EWING, R.D.** 1977 - Development of sodium regulation and de novo synthesis of Na⁺-K⁺ activated ATPase in larval brine shrimp. *J. Exp. Zool.* 202 : 339-361.
- CONTE, F.P., HOOTMAN, S.R., HARRIS, P.J.** 1972 - Neck organ of *Artemia salina* nauplii. A larval salt gland. *J. Comp. Physiol.* 80 : 239-246.
- COONS, L.B., AXTELL, R.C.** 1971 - Ultrastructure of the excretory tubes of the mite *Macrocheles muscadomesticae* (Mesostigmata, Macrochelidae) with notes on altered mitochondria. *J. Morph.* 133 : 319-338.
- COPELAND, D.E.** 1964a - Salt absorbing cells in gills of crabs, *Callinectes* and *Carcinus*. *Biol. Bull.* 127 : 367-368.
- COPELAND, D.E.** 1964b - A mitochondrial osmotic pump in the anal papillae of mosquito larvae. *J. Cell. Biol.* 23 : 253-264.
- COPELAND, D.E.** 1967 - A study of salt secreting cells in the brine shrimp *Artemia salina*. *Protoplasma*. 63 : 363-384.
- COPELAND, D.E.** 1968 - Fine structure of salt water uptake in the land crab, *Gecarcinus lateralis*. *Am. Zool.* 8 : 417-432.
- COPELAND, D.E., FITZJARREL, A.T.** 1968 - The salt absorbing cells in the gills of the blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun) with notes on modified mitochondria. *J. Zellforsch.* 92 : 1-22.
- COSTLOW, J.D.Jr.** 1968 - Metamorphosis in Crustaceans. In : *Metamorphosis a problem in development biology*. Ed : ETKIN, W., GILBERT, L.I. Appleton - Century - Crofts, New-York : 3-41.
- COSTLOW, J.D.Jr., BOOKHOUT, C.G., MONROE, R.** 1960 - The effect of salinity and temperature on larval development of the crab *Sesarma cinereum* (Bosc.) reared in the laboratory. *Biol. Bull.* 118 : 183-202.
- COSTLOW, J.D.Jr., BOOKHOUT, C.G., MONROE, R.** 1962 - Salinity-temperature effects on the larval development on the crab *Panopeus herbstii*, reared in the laboratory. *Physiol. Zool.* 35 : 79-93.

- GILLES, R.** 1978 - Intracellular free amino-acids and cell volume regulation during osmotic stress. In : Osmotic and volume regulation. Ed : JORGENSEN, C.B., SKADHAUGE, E. Academic Press, New-york : 470-491.
- GILLES, R.** 1979 - Intracellular osmotic effectors. In : Mechanisms of osmoregulation in animals. Ed: GILLES, R., Wiley. Interscience, London, New-York : 111-154.
- GOLDSTEIN, B., BOOKHOUT, C.,G.** 1972 - The larval development of *Pagurus prideauxi* Leach, 1814, under laboratory conditions (Decapoda, Pagurida). Crustaceana. 23 : 263-281.
- GOODMAN, S.H., CAVEY, M.J.** 1988 - Epithelial cells in the phyllobranchiate gills of the shore crab. Am. Zool. 28 : 142.
- GOPALAKRISHNAN, K.** 1976 - Larval rearing of red shrimp *Penaeus marginatus*. Aquaculture. 9 : 145-154.
- GUNTER, G., CHRISTMAS, J.Y., KILLEBREW, R.** 1964 - Some relation of salinity to population distributions of mobile estuarine organisms, with special reference to Penaeid shrimps. Ecology. 45 : 181-185.
- HAGERMAN, L., UGLOW, R.F.** 1983 - The influence of temperature on the osmoregulation of the brackish water shrimp *Palaemonetes varians*. Ophelia. 22 : 229-236.
- HENRY, R.P.** 1983 - The function of invertebrate carbonic anhydrase in ion transport. Annls New-York Acad. Sci. 429 : 544-546.
- HENRY, R.P.** 1984 - The role of carbonic anhydrase in blood ion and acid base regulation. Am. Zool. 42 : 241-251.
- HENRY, R.P.** 1988a - Sub-cellular distribution of carbonic anhydrase activity in the gills of the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. Exp. Zool. 245 : 1-8.
- HENRY, R.P.** 1988b - Multiple functions of carbonic anhydrase in the Crustacean gill. J. Exp. Zool. 248 : 19-24.
- HENRY, R.P., CAMERON, J.N.** 1982a - Acid-base balance in *Callinectes sapidus* during acclimatation from high to low salinity. J. Exp. Biol. 101 : 255-264.
- HENRY, R.P., CAMERON, J.N.** 1982b - The distribution and partial characterization of carbonic anhydrase in selected aquatic and terrestrial Decapod Crustaceans. J. Exp. Zool. 221 : 309-321.
- HENRY, R.P., CAMERON, J.N.** 1983 - The role of carbonic anhydrase in respiration, ion regulation and acid-base balance in the aquatic crab *Gecarcinus lateralis*. J. Exp. Biol. 103 : 205-225.
- HERNANDEZ, R.D.I., TAYLOR, S.A.C.** 1985 - The effect of temperature on osmotic and ionic regulation in the prawn *Palaemon elegans*. Ophelia. 24 : 1-16.
- HILGENDORF, F.** 1878 - Die von Hrnn W. Peters in Mozambique gesammelten Crustacea. M. B. AK. BERL: 782-851.

- HILL, B.J., ALLANSON, B.R. 1971 - Temperature tolerance of the estuarine prawn *Upogebia africana*. Mar. Biol. 11 : 337-343.
- HOLDICH, D.M., RATCLIFFE, N.A. 1970 - A light and electron microscope study of the hindgut of the herbivorous isopod, *Dynamene bidentata* (Crustaceana, Pericarida). Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 111 : 209-227.
- HOLTSCHMIT, K.H., PFEILER, E. 1984 - Effect of salinity on survival and development of larvae and post larvae of *Macrobrachium americanum*. Crustaceana. 46 : 23-28.
- HOOTMAN, S.R., CONTE, F.P. 1975 - Functional morphology of the neck organ in *Artemia salina* nauplii. J. Morph. 145 : 371-386.
- HUBSCHMAN, J.H. 1975 - Larval development of the freshwater shrimp *Palaemonetes kadiakensis* Rathbun under osmotic stress. Physiol. Zool. 48 : 97-104.
- HUDINAGA, M. 1942 - Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Japn. J. Zool. 10 : 305-353 : Pl : 16-46.
- HUDINAGA, M., KITAKA, J. 1967 - The large scale production of young Kuruma prawns, *Penaeus japonicus* Bate. Inform. Bull. Plankt. Japan, Commemoration Number Dr Y. Maatsue's 60 th Birthday : 35-46.
- HUXLEY, T.H. 1896 - The crayfish. An introduction to the study of zoology. The International Scientific Series Paul, Trench, and Trubner, London.
- IMAI, T. 1978 - Technique of prawn culture. In : Aquaculture in shallow seas : Progress in shallow sea culture. Ed : BALKEMA, A. A : 475-561.
- ISHIOKA, H. 1973 - The studies of some ecological and physiological characteristics of artificial seedling of prawn, *Penaeus japonicus* Bate. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Nansci. 6 : 59-84.
- JEUNIAUX, C., BRICTEUX-GREGOIRE, S., FLORKIN, M. 1961 - Contribution des acides aminés libres à la régulation osmotique intracellulaire chez deux Crustacés euryhalins, *Leander serratus* et *Leander squilla* L. Cah. Biol. Mar. 2 : 373-380.
- JOHNS, D.M. 1981 - Physiological studies on *Cancer irroratus* larvae. I. Effects of temperature and salinity on survival, development rate and size. Mar. Ecol. 5 : 75-83.
- KALBER, F.A. 1970 - Osmoregulation in Decapod larvae as a consideration in culture technique. Helg. Wiss Meeresunters. 20 : 697-706.
- KALBER, F.A., COSTLOW, J.D.Jr. 1966 - The ontogeny of osmoregulation and its neurosecretory control in the Decapod Crustacean *Rhithropanopeus harrisi*. Am. Zool. 6 : 221-229.
- KALBER, F.A., COSTLOW, J.D.Jr. 1968 - Osmoregulation in larvae of the land crab *Cardisoma guanhumi* Latreille. 8 : 411-416.
- KANAZAWA, A. 1982 - Penaeid nutrition. Proceed. Intern. Conf. Aquaculture Nutr. Biochem. Biophys. Appr. Shellfish Nutr., Delaware : 87-105.

- LIAO, C., CHEN, H.P.** 1972 - Taxonomic studies on the marine prawns at Tungkang area in Taiwan. I. On the four species of *Penaeus* : *Penaeus monodon*, *Penaeus semisulcatus*, *Penaeus japonicus* and *Penaeus teraoi*. *Aquaculture*. 2 : 1-11.
- LIAO, I.C., HUANG, T.C.** 1972 - Experiment on the propagation and culture of prawn in Taiwan. In : *Coastal aquaculture in the Indo-Pacific region*. Ed : PILLAY, T.V.R. Fishing News (Books), West byfleet : 328-354.
- LING, S.W., MERICAN, A.B.O.** 1961 - Notes on the life and habits of the adults and the larval stages of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Proc. Indo-Pacif. Fish. Counc.* 9 : 55-61.
- LOCHHEAD, J.H.** 1950 - Arthropoda (Crustacea). In : *Selected invertebrate types*. Ed : BROWN, F.A.Jr. Wiley, New-York : 394-462.
- LOCKWOOD, A.P.M.** 1962 - The osmoregulation of Crustacean. *J. Exp. Biol.* 37 : 257-305..
- LOCKWOOD, A.P.M.** 1968 - Aspects of the physiology of Crustacea. OLIVER and BOYD, Edinburg : 328 pp.
- LOWRY, Q.H., ROSENBROUGH, N.J., FARRA, L., RANDALL, R.J.** 1951 - Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.
- LU, D.T., LIN, M.N., TING, Y.Y., PEREZ, D.E., CHANG, J.** 1976 - Reproduction de camaron de rio de mar (I). Sistema de tanques de Taiwan. *Direccion General de Recursos Naturales Renovables, Honduras, Serie de Pesca.* 4 : 1-15.
- LUCET, Ph.** 1984 - Elevage de crevettes pénéides sur les côtes françaises : des nouvelles perspectives? *La pêche Maritime.* 568 : 574.
- MAETZ, J.** 1956 - Les échanges de sodium chez le poisson *Carassius auratus* (L.). Action d'un inhibiteur de l'anhydrase carbonique. *J. Physiol.* 48 : 1080-1099.
- MAETZ, J.** 1974 - Aspects of adaptation to hypo-osmotic and hyper-osmotic environments. In : *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*. Ed : SARGENT, D.C. Academic Press, New-York : 1-167.
- MANTEL, L.H., FARMER, L.L.** 1983 - Osmotic and ionic regulation. In : *The biology of Crustacea, vol. 5 : International anatomy and physiological regulation*. Ed : MANTEL, L.H. Academic-Press, New-York : 53-161.
- MANTEL, L.H., LANDESMAN, J.** 1977 - Osmotic regulation and Na+K+ activated ATPase in the green crab, *Carcinus maenas* and the spider crab, *Libinia emarginata*. *Biol. Bull.* 153 : 437-438.
- MAREN, T.H.** 1967 - Carbonic anhydrase : chemistry physiology and inhibition. *Physiol. Rev.* 47 : 595-781.
- MARGARIA, R.** 1931 - The osmotic changes in some marine animals. *Proc. Roy. Soc. B.* 107 : 606-624.
- MARTELO, M.J., ZANDERS, P.I.** 1986 - Modifications of gill ultrastructure and ionic composition in the crab *Goniopsis cruentata* acclimated to various salinities. *Comp. Biochem. Physiol.* 84A : 383-389.

- MARTOJA, R., MARTOJA-PIERSON, M. 1967 - Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed : Masson et Cie, Paris : 345 pp.
- Mc DONOUGH SPENCER, A., FIELDING, A.H., KAMEMOTO, F.I. 1979 - The relationship between gill Na⁺-K⁺ ATPase activity and osmoregulation capacity in various crabs. *Physiol. Zool.* 52 : 1-10.
- Mc FARLAND, W.N., LEE, B.D. 1963 - Osmotic and ionic concentrations of Penaeidean shrimps of Texas coast. *Bull. Mar. Sci.* 13 : 391-417.
- Mc LEESE, D.W. 1951 - Factors limiting the survival of the lobster *Homarus americanus* (Milne-Edwards). M. Sci. Thesis, University of western Ontario, Canada : 64 pp.
- Mc LEESE, D.W. 1956 - Effects of temperature, salinity and oxygen on the survival of the american lobster. *J. Fish. Res. Bd Canada.* 13 : 247-272.
- MELDRUM, N.V., ROUGHTON, F.J.W. 1933 - Carbonic anhydrase. Its preparation and properties. *J. Physiol.* 80 : 113-142.
- MILL, P.J. 1972 - Gills, podia and papulae. In : Respiration in the invertebrates. Lecturer in zoology, University of Leeds. Ed : MAC MILLAN ST MARTIN'S. Press : 14-63.
- MILNE, D.J., ELLIS, R.A. 1973 - The effects of salinity acclimation on the ultrastructure of the gills of *Gammarus oceanicus* (Seegerstrale, 1947), (Crustacea, Amphipoda). *Z. Zellforsch.* 139 : 311-318.
- MIYAWAKI, M., UKESHIMA, A. 1967 - On the ultrastructure of the antennal gland epithelium of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Kamemoto J. Sci. Ser. B.* 8 : 59-73.
- MONACO, G. 1975 - Laboratory rearing of larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium americanum* (Bate). *Aquaculture.* 6 : 369-375.
- MORSE, H.C., HARRIS, P.J., DORNFELD, E.J. 1970 - *Pacifastacus leniusculus* : Fine structure of arthrobranchs with reference to active ion uptake. *Trans. Amer. Microsc. Soc.* 89 : 12-27.
- NAKAO, T. 1974 - Electron microscopic study of the open circulatory system of the shrimp, *Cardina japonica*. I. Gill, capillaries. *J. Morph.* 144 : 361-380.
- NEUFELD, G.J., PRITCHARD, J.B. 1979 - Osmoregulation and gill Na⁺-K⁺ ATPase in the rock crab, *Cancer irroratus* response to DDT. *Comp. Biochem. Physiol.* 62 : 165-172.
- NOBILI, J. 1903 - Contributo alla fauna carcinologica de Borneo. *Boll. Mus. Torino* : 447.
- ORTMAN, A. 1890 - Die Decapoder-Krebse des strassburger Museums mit besonderer Berücksichtigung der von Hern. der Doderlein bei Japan un bei der Lin Kin Inseln. *Zool. Jahrb. (Abth. Syst.)* : 5.
- OSCHMAN, J.L., WALL, B.J. 1969 - The structure of the rectal pads of *Periplaneta americana* L. with regard to fluid transport. *J. Morph.* 127 : 475-510.
- PANTASTICO, J., OLIVEROS, E. 1980 - Acclimation of *Penaeus monodon* post-larvae to fresh water. *Fish. Res. J. Philipp.* 5 : 33-78.

- PAPATHANASSIOU, E. 1985 - Effects of calcium ions on the ultrastructure of the gill cells of the brown shrimp *Crangon crangon* (L.), (Decapoda, Caridea). *Crustaceana*. 48 : 6-17.
- PASSANO, L.M. 1961 - The regulation of Crustacean metamorphosis. *American zoologist*. 1 : 89-95.
- PEARSE, A.S. 1932 - Freezing-points of blood of certain littoral and estuarine animals. *Carnegie Inst. Wash. Publ.* 18 : 93-102.
- PEARSE, A.S., GUNTER, G. 1957 - Salinity. In : *Treatise on marine ecology and paleoecology*. Vol. I. Ecology. Ed : HEDGPETH, J.W. *Mem. Geol. Soc. America*. 67 : 129-157.
- PEARSON, J. 1908 - *Cancer*. *Liverpool Mar. Biol. Comm. Mem* : 16.
- PEASE, D.C. 1955 - The fine structure of the kidney seen by electron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.* 3 : 295-308.
- PEASE, D.C. 1956 - Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport. *J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl.* 2 : 203-208.
- PEQUEUX, A., GILLES, R. 1981 - Na⁺ fluxes across isolated perfused gills of the chinese crab, *Eriocheir sinensis*. *J. Exp. Biol.* 92 : 173-186.
- PEQUEUX, A., GILLES, R. 1988 - NaCl transport in gills and related structures. In : *Comparative and environmental physiology NaCl transport in epithelia*. Ed : GREGER, R. Springer Verlag-Berlin Heidelberg, New-York, London, Paris, Tokyo : 2-47.
- PEREZ FARFANTE, I. 1988 - Illustrated key to Penaeoid shrimps of commerce in the Americas. NOAA technical report NMFS 64 : 32 pp.
- PETERSON, G.L., EWING, R.D., CONTE, F.P. 1978 - Membrane differentiation and de novo synthesis of the Na⁺-K⁺ activated adenosine triphosphatase during development of *Artemia salina* nauplii. *Dev. Biol.* 67 : 90-98.
- PIPER, J.M., LOVELL, S.J. 1981 - One-step molybdate method for rapid determination of inorganic phosphate in the presence of protein. *Anal. Biochem.* 117 : 70-75.
- PRESTON, N. 1985 - The combined effects of temperature and salinity on hatching success and the survival, growth and development of the larval stages of *Metapenaeus bennettiae*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 85 : 57-74.
- QUINCY, D. 1987 - Crevettes péneïdes, une saison 86 encourageante. *Aqua Revue*. 10 : 4-5.
- QUINN, D.J., LANE, C.E. 1966 - Ionic regulation and Na⁺-K⁺ stimulated ATPase activity in the land crab, *Cardisoma guanhumi*. *Comp. Biochem. Physiol.* 19 : 533-543.
- RABALAIS, N.N., CAMERON, J.N. 1985 - The effects of factors important in semi-arid and environments on the early development of *Uca subcylindrica*. *Biol. Bull.* 168 : 147-160.

- RAMIREZ DE ISLA HERNANDEZ, S., TAYLOR, A.C.** 1985 - The effect of temperature on osmotic and ionic regulation in the prawn, *Palaemon elegans* (Rathke). *Ophelia*. 24 : 1-15.
- RATHBUN.** 1902 - Japanese stalk-eyed Crustaceans. *Proc. Nat. Mus* : 26.
- READ, G.H.L.** 1984 - Intraspecific variation in the osmoregulatory capacity of larval, post-larval, juvenile and adult *Macrobrachium petersi* (Hilgendorf). *Comp. Biochem. Physiol.* 78A : 501-506.
- REYNOLDS, G.S.** 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17 : 208-212.
- ROBERTS, M.H.Jr.** 1971 - Larval development of *Pagurus longicarpus* Say reared in the laboratory . II. Effects of reduced salinity on larval development. *Biol. Bull.* 140 : 104.
- ROBERTSON, J.D.** 1960 - Osmotic and ionic regulation. In : *Physiology of Crustacea*. Vol. I. Ed : WATERMAN, T.H. Academic Press, New-York.
- ROTHLISBERG, P.C.** 1979 - Combined effects of temperature and salinity on the survival and growth of the larvae of *Pandalus jordani*. *Mar. Biol.* 55 : 125-131.
- RUSSLER, D., MANGOS, J.** 1978 - Micropuncture studies of the osmoregulation in the nauplius of *Artemia salina*. *Am. J. Physiol.* 234 : R216-R222.
- SALL, I., FERARD, G., METAIS, P.** 1975 - L'adénosine triphosphatase (Na⁺-K⁺) dépendante de l'intestin grêle : déterminations et propriétés chez le rat. *Annls Biol. Clin.* 33 : 81-87.
- SANDOZ, M., ROGERS, R.** 1944 - The effects of environmental factors on hatching, moulting and survival of zoea of the blue crab *Callinectes sapidus* Rathbun. *Ecology*. 27 : 216.
- SCHMIDT-NIELSEN, B., GERTZ, K.H., DAVIS, C.E.** 1968 - Excretion and ultrastructure of the antennal gland of the fiddler crab *Uca mordax*. *J. Morph.* 125 : 473-495.
- SCHOFFENIELS, E.** 1976 - Adaptations with respect to salinity. *Biochem. Soc. Symp.* 41 : 179-204.
- SCHOFFENIELS, E., GILLES, R.** 1970 - Osmoregulation in aquatic arthropods. In : *Chemical zoology*. Vol. 5. Arthropoda, Part. A. Ed : FLORKIN, M., SCHEER, B.T. Academic Press, New-York : 255-286.
- SHELFORD, V.E.** 1915 - Principles and problems as illustrated by animals. *J. Ecol.* 3 : 1-23.
- SHIGUENO, K.** 1975 - Shrimp culture in Japan. *Assoc. Int. Techn. Promot. Tokyo* : 1-152.
- SJOSTRAND, F.S., RHODIN, J.** 1953 - The ultrastructure of the proximal convoluted tubule of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy. *Exp. Cell Res.* 4 : 426-456.

- SKOU, J.C. 1957 - The influence of some cations on adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochem. Biophys. Acta.* 23 : 394-401.
- SMITH, D.S., LITTAU, V.C. 1960 - Cellular specialization in excretory epithelium of an insect, *Macrosteles fascifrons* Stal (Homoptera). *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 8 : 103-133.
- SMITH, R.I. 1967 - Osmotic regulation and adaptative reduction of water-permeability in a brackish-water crab, *Rhithropanopeus harrisii* (Brachyura, Xanthidae). *Biol. Bull.* 133 : 643-658.
- SMYTH, J.D. 1942 - A note on the morphology and cytology of the branchiae of *Carcinus maenas*. *Proc. Roy. Irish Acad.* B48 : 105-118.
- SNODGRASS, R.E. 1956 - Crustacean metamorphosis. *Smithsonian Miscellaneous collections.* 131 : 1-78.
- SPAARGAREN, D.H. 1971 - Aspects of the osmotic regulation in the shrimps *Crangon crangon* and *Crangon allmanni*. *Neth. J. Sea. Res.* 5 : 275-333.
- SPRAGUE, J.B. 1969 - Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Biossay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3 : 793-821.
- SPURR, A.R. 1969 - A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26 : 31-43.
- STEBBING, T.R.R. 1910 - General catalogue of South African Crustacea. Part V of S.A. Crustacea for marine investigations in South Africa. *Annls. S. Afr. Mus.* 6.
- STORCH, V., WELSCH, V., 1975 - Uber Bau und Funktion der Kiemen und Lungen von *Ocypode ceratophthalma* (Decapoda, Crustacea). *Mar. Biol.* 29 : 363-371.
- STRANGWAYS-DIXON, J., SMITH, D.S. 1970 - The fine stucture of gill "Podocytes" in *Panulirus argus* (Crustacea). *Tissue Cell.* 2 : 611-624.
- TALBOT, P., WALLISH, C., LAWRENCE, A.L. 1972 - Light and electron microscopic studies on osmoregulatory tissue in the developping brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Tissue Cell.* 4 : 271-286.
- TAYLOR, H.H., GREENAWAY, P. 1979 - The structure of the gills and lungs of the arid-zone crab, *Holthuisana (Austrothelphusa) transversa* (Brachyura : Sundathelphasidae) including observations on arterial vessels within the gills. *J. Zool. Lond.* 189 : 359-384.
- TEMPLEMAN, W. 1936 - The influence of temperature, salinity, light and food conditions on the survival and growth of the larvae of the lobster (*Homarus americanus*). *J. Biol. Bd Can.* 2 : 485-497.
- THUET, P., CHARMANTIER-DAURES, M., CHARMANTIER, G. 1988 - Relation entre l'osmorégulation et les activités de l'ATPase Na⁺-K⁺ et de l'anhydrase carbonique chez les larves et les post-larves de *Homarus gammarus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 115 : 249-261.

- TIRMIZI, N.M.** 1958 - A study of some developmental stages of the thelycum and its relation to the spermatophores in the prawn *Penaeus japonicus* Bate. Proc. Zool. Soc. Lond. 131 : 231-244.
- TIRMIZI, N.M.** 1965 - The identity of *Penaeus japonicus* Bate and its comparison with the type of *Penaeus canaliculatus* Olivier. Scientist. Karachi. 7 : 148-151.
- TOWLE, D.W.** 1981 - Role of Na⁺-K⁺ ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. Mar. Biol. Lett. 2 : 107-122.
- TOWLE, D.W.** 1984a - Regulatory functions of Na⁺-K⁺ ATPase in marine and estuarine animals. In : Osmoregulation in estuarine and marine animals. Ed : PEQUEUX, A., BOLIS, L. 1 : 57-170.
- TOWLE, D.W.** 1984b - Membrane bound ATPases in Arthropod ion transporting tissues. Am. Zool. 24 : 177-185.
- TOWLE, D.W., KAYS, W.T.** 1986 - Basolateral localisation of Na⁺-K⁺ ATPase in gill epithelium of two osmoregulatory crabs : *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*. J. Exp. Zool. :239.
- TOWLE, D.W., KAYS, W.T., CIOFFI, M.** 1983 - Localisation of Na⁺-K⁺ ATPase in basolateral membranes of crab gill ion transporting cells. Am. Zool. 23 : 253-311.
- TOWLE, D.W., PALMER, G.E., HARRIS, J.L.** 1976 - Role of gill Na⁺-K⁺ dependant ATPase in acclimation of blue crab *Callinectes sapidus* to low salinity. J. Exp. Zool. 196 : 315-321.
- TSING, A., ARCIER, J.M., BREHELIN, M.** 1988 - Hemocytes of Penaeid and Palaemonid shrimp : morphology, cytochemistry and hemograms. J. Invert. Pathol. 53 : 64-77.
- TSUBO, I., BRANDT, P.W.** 1962 - An electron microscopic study of the Malpighian tubules of the grasshopper, *Dissoteira carolina*. J. Ultrastruct. Res. 6 : 28-35.
- TYSON, G.E.** 1969 - The fine structure of the maxillary gland of the brine shrimp, *Artemia salina*. The efferent duct. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 93 : 151-163.
- VALENTE, D.** 1948 - Mechanismos da respiracio de *Trichodactylus petropolitanus* (Goeldi). Bolm Fac. Filos, Let (Zool). 13 : 259-324.
- VILLALUZ, D.K., ARIOLA, F.J.** 1938 - Five other known species of *Penaeus* in the Philippines. Philipp. J. Sci : 66.
- VINUESA, J.H., FERRARI, L., LOMBARDO, R.J.** 1985 - Effect of temperature and salinity on larval development of southern king crab (*Lithodes antarticus*). Mar. Biol. 85 : 83-87.
- WEBB, D.A.** 1940 - Ionic regulation in *Carcinus maenas*. Proc. Roy. Soc. B. 129 : 107-136.
- WENNER, A.M.** 1985 - Larval growth. In : Crustacean Issues. Ed : SCHRAM, F.R. Balkema, Rotterdam, Boston : 236 pp.

- WILLIAMS, A.B.** 1955 - A contribution to the life histories of commercial shrimps (Penaeidae) in north Carolina. Bull. Mar. Sci. Gulf Caribb. 5 : 117-146.
- WILLIAMS, A.B.** 1960 - The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (*Penaeus*). Biol. Bull. 119 : 360-371.
- WOLVEKAMP, H.P., WATERMAN, T.H.** 1960 - The physiology of Crustacea. Ed : WATERMAN, T.H. Academic press, New-York. 1 : 35-100
- WRIGHT, K. A.** 1964 - The fine structure of the nephrocyte of the gills of two marine Decapods. J. Ultrast. Res. 10 : 1-13.
- YASUDA, J.** 1958 - Shrimps of the Seto Inland sea of Japan. Proc. Indo-Pacif. Fish. Coun. 6 : 378-386.
- YATSUYANAGI, I., MAEKAWA, K.** 1955 - Ecological studies on the important aquatic animals of the Inland Sea of Japan. 8. *Penaeus japonicus* Bate. J. Yamaguchi Pref. Naikai Fish. Exp. St. 7: 1-15.
- YOKOYA, Y.** 1941 - On the classification of Penaeid shrimps by the structural features of the appendix masculina. J. Coll. Agric. Tokyo. 15 : 45-68.
- YOSHIDA.** 1941 - Important marine shrimps and lobsters of Työsen (Korea). Bull. Fish. Exp. St., Gov. gen., Työsen : 7.
- YOUNG, A.M.** 1979a - Osmoregulation in larvae of the striped hermit crab *Clibanarius vittatus* (Bosc), (Decapoda : Anomoura : Diogenidae). East Coast. Mar. Sci. 9 : 595-601.
- YOUNG, A.M.** 1979b - Osmoregulation in three hermit crab species, *Clibanarius vittatus* (Bosc), *Pagurus longicarpus* Say and *P. pollicaris* Say (Crustacea : Decapoda, Anomoura). Comp. Biochem. Physiol. 63A : 377-382.
- YOUNG, P.C., CARPENTER, S.M.** 1977 - Recruitment of postlarval penaeid prawns to nursery areas in Moreton Bay, Queensland. Aust. J. Mar. Freshwat. Res. 28 : 745-773.
- YÜ, S.C.** 1936 - On the Chinese Penaeidea. Bull. Fun. Memorial Int. Biol. Peiping. 6 : 161-173.
- ZEIN-ELDIN, Z.P.** 1963 - Effect of salinity on growth of post larval penaeid shrimp. Biol. Bull. 125 : 188-196.
- ZEIN-ELDIN, Z.P., ALDRICH, D.V.** 1965 - Growth and survival of post larval *Penaeus aztecus* under controlled conditions of temperature and salinity. Biol. Bull. 129 : 199-216.
- ZITKO, V.** 1982 - Lectur the lethality curve program. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 1134 : 10 pp.



Année : 1990

Auteur : Nacéra BOUARICHA

Université : Montpellier II

Titre : Ontogénèse de l'osmorégulation chez la crevette *Penaeus japonicus*.

Résumé : Au cours du développement post-embryonnaire de *Penaeus japonicus*, des observations en microscopie photonique et électronique permettent de préciser les modalités de la mise en place des structures osmorégulatrices comprenant les épithéliums du branchiostégite, de la pleure, des branchies et des épipodites. La différenciation de ces épithéliums s'effectue progressivement au cours du développement larvaire et post-larvaire. On constate également :

- * une augmentation progressive de la tolérance à la salinité après la métamorphose.
- * le passage lors de la métamorphose, d'un type de régulation larvaire hyper-osmoconforme à un type de régulation adulte hyper-hypo-osmotique qui atteint sa pleine efficacité aux stades PL5-PL6.
- * une augmentation progressive de l'activité de l'ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.

Des interrelations ont été établies entre ces différentes modifications.

Sur un plan fondamental, les résultats obtenus confirment que la métamorphose associe des modifications physiologiques aux changements morphologiques, anatomiques et éco-éthologiques.

Ces résultats trouvent des applications en aquaculture des crevettes Pénéides, durant l'élevage larvaire et lors de la phase d'ensemencement.

Mots clefs : *Penaeus japonicus*, Crustacé, crevette, métamorphose, ultrastructure, tolérance à la salinité, osmorégulation, ATPase $\text{Na}^+ - \text{K}^+$.