

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

N. Bouaricha*, G. Charmantier**, M. Charmantier-Daures**,
P. Thuet** et J.-P. Trilles**

*INES de biologie, BP 358, RP, Imama, Tlemcen, 13000, Algérie

**USTL Laboratoire d'écophysiologie des invertébrés, 34095 Montpellier Cedex 2, France.

Résumé : Au cours du développement post-embryonnaire de *Penaeus japonicus*, des observations en microscopie permettent de préciser les modalités de la mise en place des structures osmorégulatrices comprenant les épithéliums du branchiostégite, de la pleure, des branchies et de 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 intélations ont été établies entre ces différentes modifications. Les résultats obtenus confirment que la métamorphose associe des modifications physiologiques aux changements morphologiques, anatomiques et éco-éthologiques.

Abstract : The ontogeny of osmoregulatory structures has been studied during the post-embryonic development of *Penaeus japonicus*. Osmoregulatory epithelia occur progressively in branchiostegites, pleurae, gills and epipodites of different larval and postlarval stages. Several events were concurrently observed :

- Salinity tolerance increases progressively after metamorphosis.
- Osmoregulation shifts in postlarvae ; maximum capacity to osmoregulate is established in stages PL5-PL6.
- $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity increases progressively.

Interrelationships can be drawn between the changes. It is again demonstrated that morphological, anatomical, eco-ethological and physiological changes are closely interrelated at metamorphosis.

INTRODUCTION

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

L'étude fondamentale de la métamorphose physiologique des crustacés présente un intérêt certain car les phénomènes métamorphiques ne sont pas bien connus chez les crustacés, du moins les changements physiologiques qui accompagnent la métamorphose.

Les Pénéides ont un grand intérêt économique dans le monde. Plusieurs espèces ont une haute valeur commerciale et dans certaines régions du monde font l'objet d'une pêche importante. Ces crevettes présentent des potentialités intéressantes pour l'élevage et ont des atouts importants en aquaculture.

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

L'espèce *Penaeus japonicus* a été choisie pour deux raisons essentielles : elle représente un bon modèle d'étude du fait de ses caractéristiques de développement, et elle est disponible dans les écloséries.

Notre travail comprend trois parties :

- 1) Une partie histologique qui décrit l'ontogénèse des structures osmorégulatrices.
- 2) Une partie physiologique qui évalue la tolérance à la salinité et les capacités osmorégulatrices des différents stades.
- 3) Une partie biochimique qui étudie les activités enzymatiques de l'ATPase $\text{Na}^+\text{-K}^+$ et de l'anhydrase carbonique.

ONTOGÉNÈSE DES STRUCTURES OSMORÉGULATRICES :

Tous les éléments de la cavité branchiale (branchies, branchiostégite, pleure, épipodites) ont fait l'objet d'une étude histologique, (Fig. 1 pour leur localisation). L'étude de leurs épithéliums quand ils sont différenciés montre les mêmes adaptations morphologiques spéci-

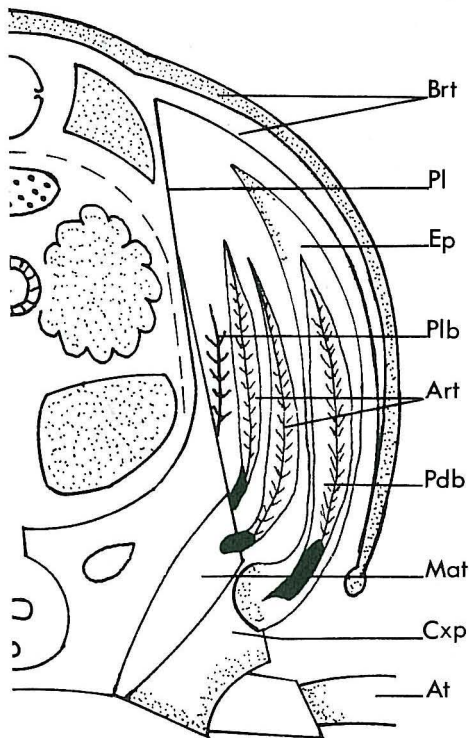


Fig. 1 : Schéma général d'une coupe transversale d'un crustacé décapode montrant la localisation des éléments de la chambre branchiale. Art : arthro branchie ; At : appendice thoracique ; Brt : branchiostégite ; Cxp : coxopodite ; Ep : épipodite ; Mat : membrane d'articulation ; Pdb : podo branchie ; Pl : pleure ; Plb : pleuro branchie.

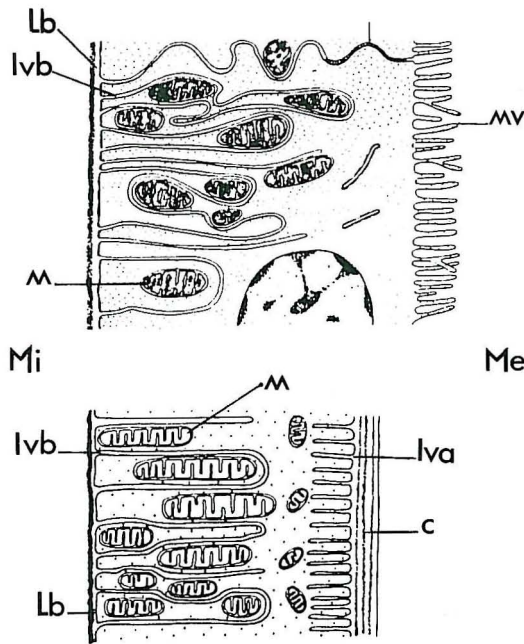


Fig. 2 : Cellules épithéliales différenciées. C : cuticule ; Iva : invagination apicale ; Ivb : invagination basale ; Lb : lame basale ; M : mitochondrie ; Me : milieu extérieur ; Mi : milieu intérieur ; Mv : microvillosité.

figues de tissus impliqués dans les transports ioniques, et donc leur intervention dans l'osmorégulation (Revue in Lockwood, 1968 ; Talbot *et al.*, 1972 ; Felder *et al.*, 1986 ; Péqueux & Gilles, 1988). La principale caractéristique de cette adaptation est la grande augmentation de la surface cellulaire due à la présence de microvillosités apicales (ou invaginations pour les épipodites) et d'invaginations basales (sauf pour les branchies) formant un réseau de membranes extrêmement denses et étroitement associées à de très nombreuses mitochondries (Fig. 2). Le nombre important des crêtes de ces organites indique leur haut degré métabolique, et l'énergie fournie sert aux transports ioniques.

La mise en place de ces structures osmorégulatrices est progressive au cours du développement postembryonnaire de *P. japonicus* (Fig. 3), ainsi :

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

* Chez les jeunes stades larvaires suivants (zoés 2, zoés 3) dépourvus de branchies et d'épipodites, seuls les tissus épithéliaux du branchiostégite 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-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

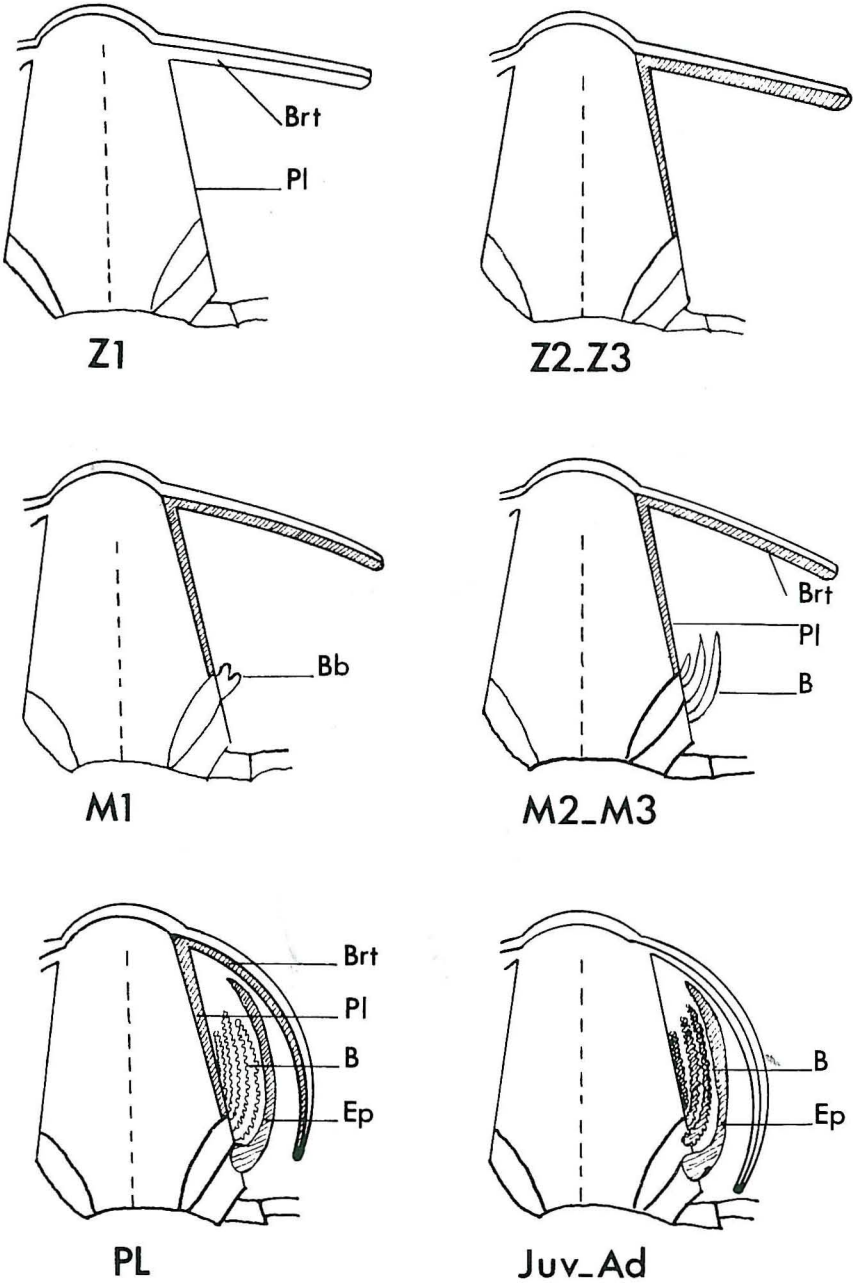


Fig. 3 : Ontogénèse des structures osmorégulatrices chez *Penaeus japonicus*. Z : zoé ; M : mysis ; Pl : post-larve ; Juv-Ad : juvénile-adulte ; B : branchie ; Bb : bourgeon branchial ; Brt : branchiostégite ; Ep : épipodite ; Pl : pleure. Les zones hachurées représentent les structures osmorégulatrices. Les échelles de taille des différents stades ne sont pas respectées.

tion assez précoce viendraient seconder 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 dont le nombre est de 18 paires (Hudinaga, 1942) sont par contre légèrement différenciées et les épipodites restent toujours hautement différenciés. Les deux types de structure participeraient simultanément à l'osmorégulation.

TOLÉRANCE A LA SALINITÉ : Fig 4

* Les stades larvaires (nauplii, zoés, mysis) sont dans l'ensemble moyennement tolérants aux faibles salinités ; leur fragilité augmente avec la succession des stades.

* Les derniers stades larvaires (mysis 3) et les premiers stades post-larvaires (PL1) sont les moins tolérants aux faibles salinités. Ce sont donc les stades précédent et suivant la métamorphose qui sont les plus fragiles à la baisse de salinité.

* Les stades post-larvaires ont une tolérance aux faibles salinités plus grande. Celle-ci augmente progressivement jusqu'aux stades PL5-PL6 à partir desquels elle devient maximum et ne varie pratiquement plus durant la phase juvénile.

La fragilité observée vers la fin du développement larvaire a été signalée chez d'autres espèces (Holtzman & Pfeiler, 1984 ; Charmantier *et al.*, 1988 ; Charmantier-Daures *et al.*, 1988).

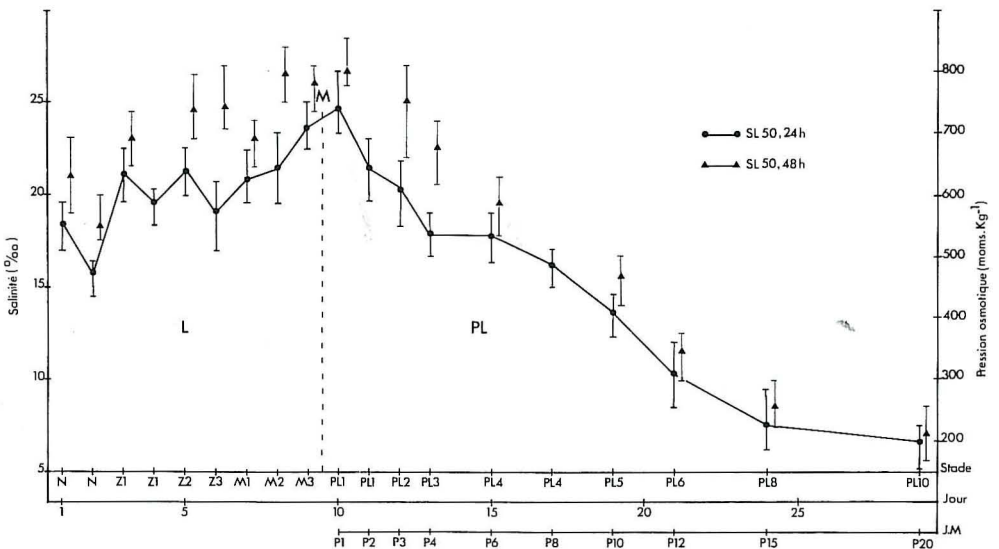


Fig. 4 : Tolérance à la salinité chez les larves (L) et les post-larves (PL) de *Penaeus japonicus* à 25°C. Variation de la SL50 en ‰ et en mosm.kg⁻¹ en fonction du stade de développement et du nombre de jours après la ponte. Chaque point représente la moyenne d'au moins deux mesures \pm intervalle de confiance (95 %). N : nauplius ; Z : zoé ; M : mysis ; PL : stade post larvaire ; SL50, 24 h ; SL50, 48 h.

CAPACITÉS OSMORÉGULATRICES : Fig. 5

* Les stades zoés 2 et 3 sont légèrement hyperosmoconformes sur toute l'étendue de l'échelle des salinités. L'hyperosmotocité augmente légèrement en fin de zoés 3.

* Les trois stades mysis présentent également une régulation hyperosmoconforme.

Ce type de régulation osmoconforme se retrouve chez d'autres larves de Décapodes (Kalber & Costlow, 1966 ; Kalber, 1970 ; Foskett, 1977 ; Charmantier *et al.*, 1984, 1988).

Le type de régulation change à la métamorphose. Dès le début du premier stade post-larvaire PL1 apparaît une tendance à l'isosmotocité 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'hyporégulation. A partir des stades PL5-PL6, le gradient osmotique entre l'hémolymph et le milieu est maximum. Chez ces stades, l'osmorégulation est donc de type adulte avec une capacité maximum de l'hyper et de l'hyporégulation.

Pour établir le lien entre les capacités osmorégulatrices et la tolérance aux faibles salinités, nous pouvons dire que :

* Chez les stades larvaires jeunes (nauplii et zoés 1), la régulation est très probablement hyperosmoconforme et la tolérance à la salinité est moyenne.

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

* Chez les stades post-larvaires, la régulation devient de type hyper-hypo-osmotique et la tolérance aux faibles salinités devient importante à partir des stades PL5-PL6.

Comme chez d'autres espèces de Décapodes (Rabalais & Cameron, 1985 ; Charmantier *et al.*, 1988) la métamorphose s'accompagne donc d'importants changements de la physiologie de l'osmorégulation corrélés à des variations de la tolérance à la salinité.

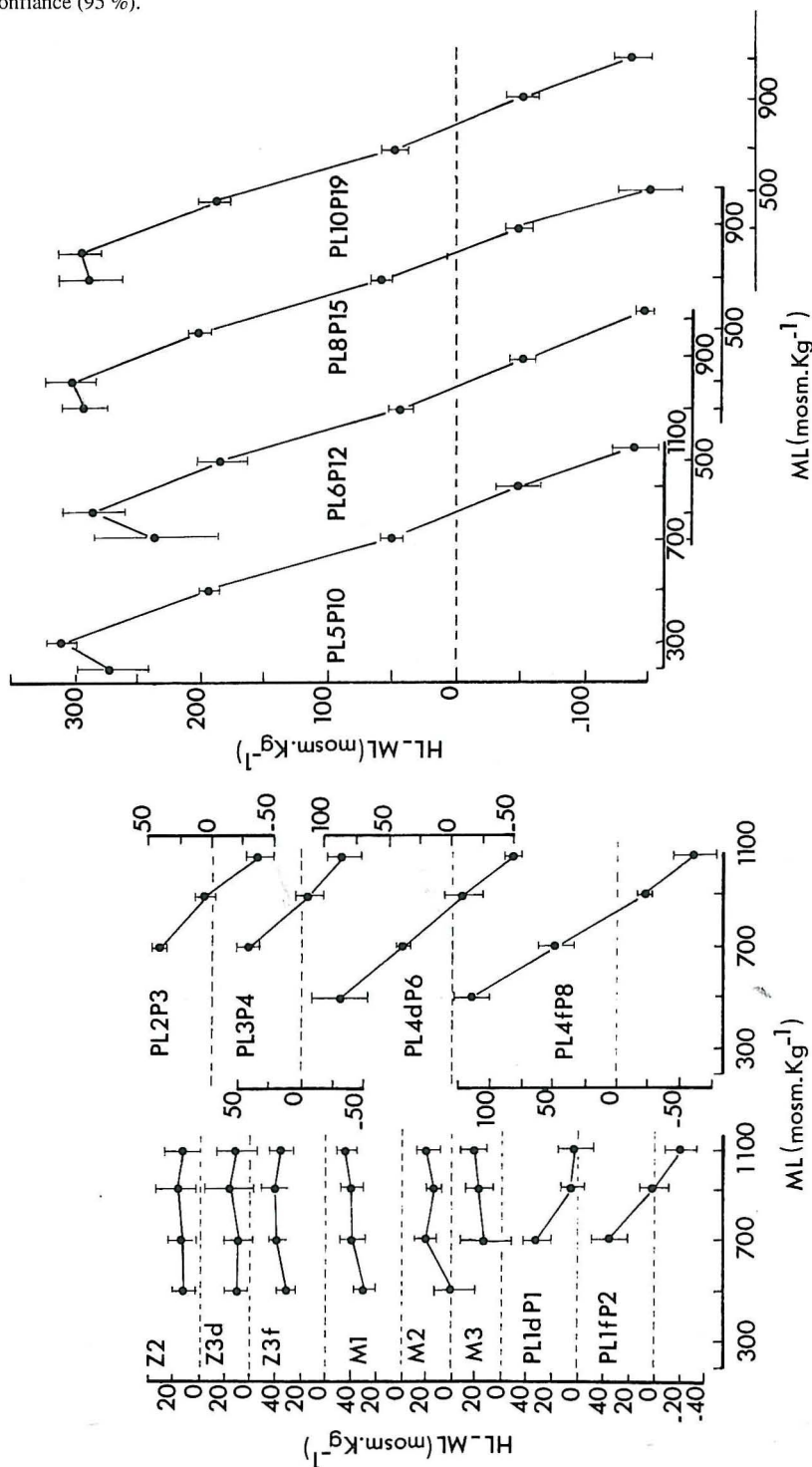
Chez les stades juvéniles et adultes la régulation osmotique et la tolérance aux faibles salinités sont comparables à celles des post-larves.

ACTIVITÉ de l'ATPase Na⁺-K⁺ et de l'anhydrase carbonique (Fig. 6) :

L'activité de l'ATPase Na⁺-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 postlarvaires PL5. La relation entre le taux d'activité de l'ATPase Na⁺-K⁺ et les capacités osmorégulatrices a déjà été signalée par divers auteurs (Towle, 1974 ; Towle *et al.*, 1976 ; Mantel & Landesman, 1977 ; Mc Donough Spencer *et al.*, 1979 ; Neufeld & Pritchard, 1979).

L'activité de l'anhydrase carbonique ne semble pas varier chez les stades étudiés (des nauplii jusqu'aux PL16), son implication est donc incertaine dans l'osmorégulation des jeunes stades de *P. japonicus*.

Fig. 5 : Variation de la différence entre les pressions osmotiques de l'hémolymph et du milieu (HL-ML) en fonction de la pression osmotique du milieu (ML) chez les stades larvaires et postlarvaires de *Penaeus japonicus* à 25°C. Chaque point représente la moyenne de mesures faites chez 10 à 15 animaux \pm intervalle de confiance (95 %).



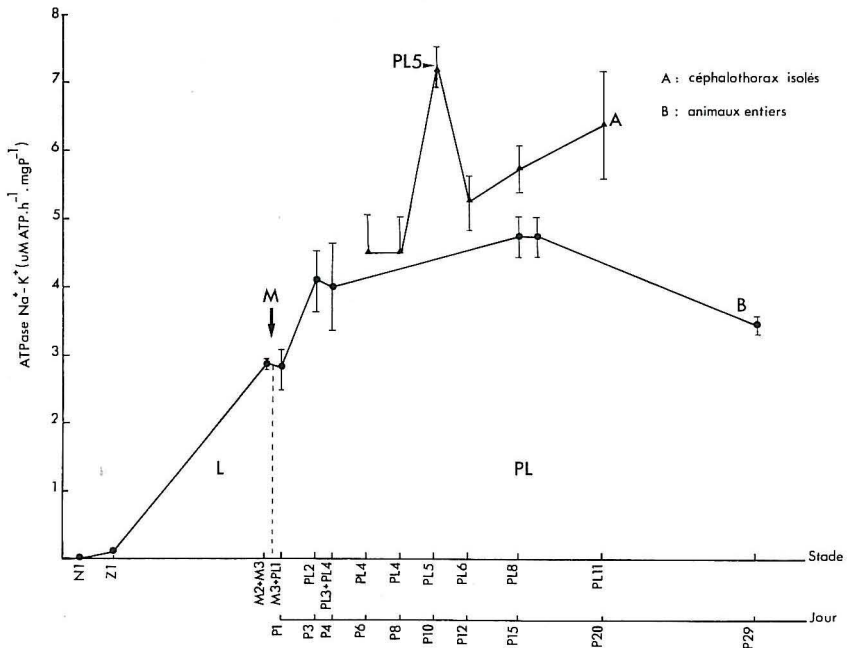


Fig. 6 : Activité de l'ATPase $\text{Na}^+\text{-K}^+$ en fonction du stade de développement de *Penaeus japonicus* exprimée en $\mu\text{m ATP} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg Protéines}^{-1}$. Chaque point représente la moyenne des mesures faites sur 4 à 16 animaux \pm erreur type.

CONCLUSION

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.

Les larves sont pourvues de peu de structures osmorégulatrices, ce qui pourrait expliquer une activité ATPasique réduite. Ayant de faibles capacités osmorégulatrices (hyper-osmo-conforme), ces animaux ne sont pas tolérants aux basses salinités et ne peuvent donc vivre qu'en pleine mer où les variations de salinité sont peu importantes.

Après la métamorphose, les post-larves acquièrent d'autres structures osmorégulatrices, en plus de celles qui ont persisté et qui se sont développées ce qui pourrait expliquer l'importante activité ATPasique détectée chez les post-larves et dont le maximum a été enregistré chez les PL5 - PL6. Les animaux deviennent hyper-hyporégulateurs, et l'efficacité maximum de cette régulation est atteinte aussi chez les PL5 - PL6 ce qui permet ainsi aux post-larves d'avoir une tolérance élevée aux faibles salinités et de pouvoir coloniser les milieux côtiers et estuariens soumis à des fluctuations importantes de salinité.

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

Sur un plan appliqué, certains de nos résultats ont des implications en aquaculture, en particulier dans deux domaines, ainsi :

* dans les écloséries, une attention et une surveillance particulières sont nécessaires en ce qui concerne les stades pré et postmétamorphiques qui sont les moins tolérants à la salinité.

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

Ce texte est le résumé d'une thèse de doctorat soutenue par le premier auteur à l'Université de Montpellier II (1990).

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- CHARMANTIER, G., M. CHARMANTIER-DAURES, D.E. AIKEN, 1984. 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., M. CHARMANTIER-DAURES, N. BOUARICHA, P. THUET, D.E. AIKEN, J.-P. TRILLES, 1988. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in two Decapods Crustaceans : *Homarus americanus* and *Penaeus japonicus*. *Biol. Bull.* 175 : 102-110.
- CHARMANTIER-DAURES, M., P. THUET, G. CHARMANTIER, J.-P. TRILLES, 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.
- FELDER, J.M., D.L. FELDER, S.C. HAND, 1986. Ontogeny of osmoregulation in the estuarine ghost shrimp *Callinassa jamaicensis* var. *louisianensis* Schmitt. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 99 : 912-106.
- FOSKETT, J.K., 1977. Osmoregulation in the larvae and adults of the grapsid crab; *Sesarma reticulatum* Say. *Biol. Bull.* 153 : 505-526.
- HOLTSCHMITT, K.H., E. PFEILER, 1984. Effect of salinity on survival and development of larvae and post larvae of *Macrobrachium americanum*. *Crustaceana*, 46 : 23-28.
- HUDINAGA, M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. *Japn. J. Zool.*, 10 : 305-353 : Pl : 16-46.
- KALBER, F.A., 1970. Osmoregulation in Decapod larvae as a consideration in culture technique. *Helv. Wiss. Meeresunters*, 20 : 697-706.
- KALBER, F.A., J.D. JR COSTLOW, 1966. The ontogeny of osmoregulation and its neurosecretory control in the Decapod Crustacean *Rhithropanopeus harrisi*. *Am. Zool.* 6 : 221-229.
- LOCKWOOD, A.P.M., 1968. Aspects of the physiology of Crustacea. OLIVER and BOYD, Edinburg : 328 pp.
- MANTEL, L.H., J. LANDESMAN, 1977. Osmotic regulation and $\text{Na}^+\text{-K}^+$ activated ATPase in the green crab, *Carcinus maenas* and the spider crab, *Libinia emarginata*. *Biol. Bull.*, 153 : 437-438.
- Mc DONOUGH SPENCER, A., A.H. FIELDING, F.I. KAMEMOTO, 1979. The relationship between gill $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity and osmoregulation capacity in various crabs. *Physiol. Zool.*, 52 : 1-10.
- NEUFELD, G.J., J.B. PRITCHARD, 1979. Osmoregulation and gill $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase in the rock crab, *Cancer irroratus* response to DDT. *Comp. Biochem. Physiol.*, 62 : 165-172.
- PEQUEUX A., & R. GILLES, 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.
- RABALAIS, N.N., J.N. CAMERON, 1985. The effects of factors importance in semi-arid and environments on the early

- development of *Uca subcylindrica*. *Biol. Bull.*, 168 : 147-160.
- TALBOT, P., C. WALLISH, A.L. LAWRENCE, 1972. Light and electron microscopic studies on osmoregulatory tissue in the developing brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Tissue Cell.*, 4 : 271-286.
- TOWLE, D.W., 1984. Regulatory functions of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase in marine and estuarine animals. In : Osmoregulation in estuarine and marine animals. Ed : PEQUEUX A., BOLIS L. : 57-170.
- TOWLE, D.W., G.E. PALMER, J.L. HARRIS, 1976. Role of gill $\text{Na}^+\text{-K}^+$ dependant ATPase in acclimation of blue crab *Callinectes sapidus* to low salinity. *J. Exp. Zool.*, 196 : 315-321.