

# PREMIÈRES DONNÉES SUR LA RÉGULATION OSMOTIQUE ET LA RÉGULATION IONIQUE DU CRABE TERRESTRE, *CARDISOMA ARMATUM HERKLOTS.*

par

M. De Leersnyder et H. Hoestlandt

Laboratoire de Zoologie de la Faculté Libre des Sciences de Lille.

## Résumé

1. — Le Crabe terrestre équatorial, *Cardisoma armatum*, est caractérisé par une régulation osmotique importante : hypotonicité en eau de mer et hypertonicité en eau douce.
2. — L'urine demeure isotonique au sérum lors des variations de salinité du milieu extérieur.
3. — Les variations de température (30° et 15° C) ne semblent pas influencer la capacité osmorégulatrice des crabes.
4. — La teneur du sérum en ions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$  dépend de la salinité du milieu extérieur. La calcémie et la kaliémie sont indépendantes du milieu extérieur.
5. — L'urine contient moins de calcium que le sérum ; la glande antennaire excrète abondamment le magnésium lorsque le crabe est en eau de mer.

*Cardisoma armatum* Herklots, 1851, est un Décapode Brachyoure de la famille des Gecarcinidés, Crabes terrestres, principalement équatoriaux. Ce Crabe est abondant sur la côte équatoriale occidentale d'Afrique et l'un de nous rapporta quelques spécimens du Dahomey. Ce Crustacé vit dans des terriers au voisinage des lagunes ou de la mer ; les jeunes stades se développent en mer (Irvine, 1947) ; au laboratoire, le crabe semble plus attiré par l'eau douce que par l'eau de mer (Chesmann, 1922).

Cette espèce n'a jamais été, à notre connaissance, l'objet d'études de régulation du milieu intérieur. Nous savons seulement que sur une espèce voisine, *Cardisoma guanhumi* Latreille, Pearse (1932) a souligné l'hypotonicité du sérum par rapport à l'eau de mer. Il nous a donc semblé intéressant d'aborder la régulation osmotique et la régulation ionique de *C. armatum* par prélevements d'hémolymphe et d'urine. L'osmorégulation a déjà été l'objet d'études chez quelques Décapodes terrestres (Crabes et Pagures) ; nous y reviendrons au cours de cet exposé.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous effectuons nos recherches sur 8 *Cardisoma armatum* mâles de type adulte au stade d'intermue C<sub>4</sub> (Drach, 1939). Durant les périodes de repos, les Crabes sont mis dans des terrariums avec sable saturé d'eau saumâtre (15 g de chlorures par litre) et immergés tous les deux jours durant quelques minutes dans une eau saumâtre de même concentration. Les terrariums sont placés dans une chambre humidifiée à saturation, maintenue à la température de + 30°C. La nourriture des crabes est composée de dattes à huile, de noix de coco et de bananes auxquelles on ajoute un peu de crevettes ou de muscles d'écrevisse. Ainsi, les conditions de vie sont aussi voisines que possible des conditions naturelles du Dahomey. Durant les périodes d'expérience, les crabes ne sont pas alimentés, ils sont maintenus dans des aquariums avec un fond d'eau de mer ou d'eau douce, ce qui permet au crabe d'échanger l'eau de sa cavité branchiale sans être lui-même immergé. Enfin, les mêmes crabes ont parfois servi à une double série d'essais, mais après un temps de repos d'une semaine.

Au cours des essais, il n'est prélevé qu'une petite quantité d'hémolymphé par animal afin de ne pas apporter de modification sensible au volume liquide interne. Pour cela, l'extrémité du dactylopode d'un péréiopode est sectionnée ; après avoir recueilli une petite quantité de liquide (environ 1/4 de cm<sup>3</sup>), la plaie est cautérisée par application de paraffine fondu ; l'hémolymphé prélevée est centrifugée pour en isoler le sérum. L'urine est obtenue en soulevant l'opercule du pore excréteur antennaire et en appliquant une petite canule de verre à l'extrémité du canal excréteur ; la quantité d'urine obtenue est très variable : quelques gouttes à un demi-centimètre cube.

Les abaissements cryoscopiques du sérum et de l'urine sont déterminés au microcryoscope avec la précision du 1/200° C (De Leersnyder, Desrousseaux et Hoestlandt, 1961) ; le prélèvement des micro-gouttes nécessaires à cette précision (10<sup>-3</sup> à 10<sup>-4</sup> mm<sup>3</sup>) est effectué selon la méthode Ramsay et Brown (1955). Le chlore est dosé par la méthode potentiométrique de Sanderson (1952) ; le sodium et le potassium sont déterminés par photométric de flamme, avec des solutions étalon de chlorure de sodium pur pour le sodium et avec des solutions de chlorure de potassium contenant la même quantité de chlorure de sodium que l'échantillon à doser pour le potassium, afin d'éviter l'interférence de l'ion Na<sup>+</sup> sur l'ion K<sup>+</sup> (Valencia, 1956). Le calcium est dosé par complexométrie en présence de l'indicateur de Patton et Reeder (1956) d'après la méthode de Tronchet (1958). Le magnésium est dosé par différence, à partir du dosage total des ions Ca<sup>++</sup> et Mg<sup>++</sup> en présence de noir ériochrome T selon la méthode de Badinand et Winicki (1958) ; en outre, pour les *Cardisoma* maintenus en eau de mer, l'abondance du magnésium dans l'urine conduit à utiliser pour ces dosages une méthode de complexométrie indirecte (De Leersnyder, 1962).

Les résultats des diverses analyses sont toujours exprimés en milli-équivalents par litre.

## I. — RÉGULATION OSMOTIQUE.

## I) Variation de la salinité.

Ces expériences sont réalisées à la température de + 30°C.

*Le serum.* — L'abaissement cryoscopique est mesuré sur les 8 crabes en période de repos ( $\Delta$  de l'eau saumâtre : — 0,940°C) et l'on obtient la moyenne  $\Delta = -1,453^\circ\text{C} \pm 0,025$  (Tableau I). Quatre crabes sont ensuite mis en expérience, d'abord en eau de mer ( $\Delta$  de l'eau de mer = — 1,875°C) durant 48 heures, puis en eau douce durant le même laps de temps et l'on obtient les moyennes suivantes : en eau de mer  $\Delta = -1,708^\circ\text{C} \pm 0,034$  et en eau douce  $\Delta = -1,391^\circ\text{C} \pm 0,015$ .

TABLEAU I

Relation entre l'abaissement cryoscopique du serum et la salinité du milieu extérieur.

N° des animaux	Eau saumâtre	Eau de mer	Eau douce
1	— 1,560°C		
2	— 1,360°C		
3	— 1,460°C		
4	— 1,375°C		
5	— 1,425°C	— 1,640°C	— 1,420°C
6	— 1,440°C	— 1,700°C	— 1,350°C
7	— 1,470°C	— 1,690°C	— 1,405°C
8	— 1,540°C	— 1,800°C	— 1,390°C
Δ moyen	— 1,453°C $\pm 0,025$	— 1,708°C $\pm 0,034$	— 1,391°C $\pm 0,015$

Le serum est donc nettement hypotonique à l'eau de mer et nettement hypertonique à l'eau douce ; en eau saumâtre, la valeur de  $\Delta$  est intermédiaire entre celles obtenues en eau de mer et en eau douce. Ces résultats s'accordent avec ceux qui ont été signalés pour d'autres espèces terrestres ou semi-terrestres : *Pachygrapsus crassipes*, *Birgus latro*, *Coenobita* sp., *Grapsus grapsus*, *Ocypode* sp. (Gross, 1955 ; Jones, 1941). Les Crabes terrestres possèdent donc une adaptation satisfaisante à des milieux de salinité variable.

*Relation entre l'urine et le serum.*

L'étude en est faite chez 7 crabes en période de repos, puis sur 4 crabes expérimentés successivement en eau de mer (48 heures) et en eau douce (48 heures) (Tableau II). On peut en conclure que l'urine et le serum sont isotoniques (la faible hypotonie de l'urine par rapport au serum est dépourvue de valeur significative). Au cours de nos expériences, il semble donc que les cellules de la glande antennaire soient incapables de réabsorber l'eau du flux urinaire. Chez *Ocypode albicans* et *Goniopsis cruentatus*, Flemister (1951, 1958) a

TABLEAU II

Comparaison entre les abaissements cryoscopiques du sérum et de l'urine lors des variations de salinité du milieu extérieur.

N° DES ANIMAUX	EAU SAUMATRE		EAU DE MER		EAU DOUCE	
	Sérum	Urine	Sérum	Urine	Sérum	Urine
1	— 1.560°C	— 1.540°C				
3	— 1.460°C	— 1.425°C				
4	— 1.375°C	— 1.345°C				
5	—	—				
6	— 1.455°C	— 1.420°C	— 1.700°C	— 1.680°C	— 1.420°C	— 1.420°C
7	— 1.470°C	— 1.435°C	— 1.690°C	— 1.625°C	— 1.350°C	— 1.330°C
8	— 1.540°C	— 1.485°C	— 1.800°C	— 1.730°C	— 1.405°C	— 1.395°C
Δ moyen	— 1.476 ± 0,027	— 1.441 ± 0,027	— 1.730°C ± 0,035	— 1.678°C ± 0,031	— 1.391°C ± 0,015	— 1.379°C ± 0,020

constaté une réabsorption d'eau à partir de l'urine lorsque les crabes sont dans l'air ou dans des solutions hypertoniques. *Cardisoma armatum* serait donc moins bien adapté à la vie terrestre que ces deux espèces.

## 2) Variation de la température.

Sur 3 crabes, nous avons étudié l'action de la température en maintenant les animaux à + 15°C, en eau de mer (48 heures), puis en eau douce (48 heures). Les résultats sont présentés dans le Tableau III. Les crabes sont peu vivaces à + 15°C (au Dahomey, ils ne supportent jamais de température inférieure à + 24°C).

Les fonctions osmorégulatrices des crabes ne semblent pas perturbées par cet important abaissement de température car les  $\Delta$  sont comparables à ceux que l'on obtint à la température de + 30°C (Tableau II).

TABLEAU III

Relation entre les abaissements cryoscopiques du sérum et de l'urine lors des variations de la température.

N° DES ANIMAUX	EAU SAUMATRE + 30°C		EAU DE MER + 15°C		EAU DOUCE + 15°C	
	Sérum	Urine	Sérum	Urine	Sérum	Urine
6	— 1.455°C	— 1.420°C	— 1.635°C	— 1.585°C	— 1.380°C	— 1.325°C
7	— 1.365°C	— 1.345°C	— 1.850°C	— 1.810°C	— 1.355°C	—
8	— 1.455°C	— 1.355°C	— 1.735°C	— 1.670°C	— 1.240°C (*)	— 1.230°C
$\Delta$ moyen	— 1.425°C	— 1.373°C	— 1.740°C	— 1.688°C	— 1.325°C	— 1.277°C

\* Prélèvement effectué sur l'animal après sa mort en eau douce.

## II. — RÉGULATION IONIQUE.

L'analyse des principaux ions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  exige un volume relativement important de sérum et d'urine. Trois crabes (N°s 2, 3, 4) sont sacrifiés pour un prélèvement total de l'hémolymphe, quatre autres (N°s 5, 6, 7, 8) sont utilisés pour la comparaison des principaux ions du sérum et de l'urine en eau douce et en eau de mer. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau IV.

L'examen du tableau conduit aux interprétations suivantes. Dans le sérum, la concentration en ions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ , peu différente entre des crabes maintenus en eau douce ou en eau saumâtre, est nettement accrue chez des crabes maintenus en eau de mer ; les ions  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^{++}$  ne semblent pas influencés par le milieu extérieur. Gross et Holland (1960) ont constaté que le  $\text{Ca}^{++}$  était pratiquement indépendant de la salinité extérieure chez *Coenobita perlatus*. Chez *Cardisoma armatum*,

TABLEAU IV

Concentration des principaux ions du sérum et de l'urine lors des variations de la salinité.

N° DES ANIMAUX	MILIEU EXTÉRIEUR	SÉRUM					URINE				
		Cl <sup>-</sup> en mEq/l	Na <sup>+</sup> en mEq/l	K <sup>+</sup> en mEq/l	Ca <sup>++</sup> en mEq/l	Mg <sup>++</sup> en mEq/l	Cl <sup>-</sup> en mEq/l	Na <sup>+</sup> en mEq/l	K <sup>+</sup> en mEq/l	Ca <sup>++</sup> en mEq/l	Mg <sup>++</sup> en mEq/l
2	Saumâtre	330,00	335,36	9,96	24,00	6,90	—	—	—	—	—
3		352,00	360,26	10,13	24,30	8,70	—	—	—	—	—
4		332,00	338,21	8,49	23,70	12,30	—	—	—	—	—
7	Eau de mer	426,00	426,93	7,59	24,00	20,40	—	—	—	12,00	127,20
8		442,50	446,97	6,90	23,40	18,00	—	—	—	4,20	175,20
5	Eau douce	334,00	—	—	24,00	9,60	324,00	—	—	9,60	4,80
6		347,00	349,17	—	24,60	9,00	338,50	—	—	11,40	15,00

les ions  $K^+$  et  $Ca^{++}$  ne pénétreraient donc pas par les branchies, mais probablement par le tube digestif et proviendraient donc des aliments. Cela constituerait un facteur physiologique important de l'adaptation des crabes à la vie terrestre.

Dans l'urine,  $Mg^{++}$  est abondamment excrété chez des crabes maintenus en eau de mer, ce qui est la norme chez les Décapodes euryhalins. Dans l'urine également, l'ion  $Ca^{++}$  est moins abondant que dans le sérum, chez des crabes maintenus en eau douce ou en eau de mer. Chez *Eriocheir sinensis*, il y a également rétention importante de  $Ca^{++}$  par la glande antennaire (Scholles, 1933). Les glandes antennaires de *Cardisoma armatum* et d'*Eriocheir sinensis* auraient donc un comportement analogue à l'égard des ions  $Mg^{++}$  et  $Ca^{++}$ .

### Summary

- 1.—*Cardiosoma armatum*, terrestrial equatorial Crab, has well-developed power of osmotic regulation: hypotonicity in sea water and hypertonicity in fresh water.
- 2.—By variations of water salinity, urine is always isotonic with serum.
- 3.—By variations of temperature ( $30^{\circ}C$  and  $15^{\circ}C$ ), the osmotic capacity of crabs does not change.
- 4.—In serum, ions  $Cl^-$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{++}$  are in relation with the salinity of water. Ions  $K^+$  and  $Ca^{++}$  do not change by external variations.
- 5.—In urine,  $Ca^{++}$  is less abundant than in serum. The excretory gland gives more  $Mg^{++}$  when crabs are in sea water.

### Zusammenfassung

1. — Der äquatoriale Festlandkrebs *Cardisoma armatum* ist durch eine starke osmotische Regulation gekennzeichnet : Hypotonus im Meerwasser und Hyper-tonus im Süsswasser.
2. — Der Urin bleibt isotonisch mit dem Serum im Verlaufe der Aenderungen des Salzgehaltes des äusseren Milieu.
3. — Der Temperaturwechsel ( $30^{\circ}$  und  $15^{\circ}$  C) scheint die osmoregulatorischen Fähigkeiten des Krebses nicht zu beeinflussen.
4. — Der Gehalt des Serums an  $Cl^-$ ,  $Na^+$  und  $Mg^{++}$  Ionen hängt vom Salzgehalt des äusseren Milieu ab. Die Calcémie und die Kaliémie sind unabhängig vom äusseren Milieu.
5. — Der Urin enthält weniger Calcium als das Serum ; die Antennendrüse sondert reichlich Magnesium ab, wenn der Krebs sich in marinem Milieu befindet.

### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BADINAND, A., et WINICKI, B., 1958. — Dosage direct du calcium et du magnésium dans les milieux biologiques. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon.*, 2, pp. 45-54.
- CHESMANN, L.E., 1922. — Observations on the land crab, *Cardisoma armatum*, with special regard to the sense organs. *Proc. Zool. Soc. London (general meetings for scientific business)*. 1922, pp. 361-363.
- DE LEERSNYDER, M., DESROUSSEAU, J. et HOESTLANDT, H., 1961. — Appareil pour l'étude du point de congélation de très petites quantités de liquides biologiques. *Bull. Mus. Hist. Nat. Paris*, 33, pp. 128-131.
- DE LEERSNYDER, M., 1962. — Dosage du calcium dans des liquides biologiques riches en magnésium. *Mém. Soc. Nat. Sc. Nat. et Math. Cherbourg*, 9, pp. 63-66.

- DRACH, P., 1939. — Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Ann. Inst. Océan.* 19, pp. 103-391, Pl. 2 à 7.
- FLEMISTER, L.J. et FLEMISTER S.C., 1951. — Chloride ion regulation and oxygen consumption in the Crab *Ocypode albicans* (Bosq). *Biol. Bull.*, 101, pp. 259-273.
- FLEMISTER, L.J., 1958. — Salt and water anatomy, constancy and regulation in related crabs from marine and terrestrial habitats. *Biol. Bull.*, 115, pp. 180-200.
- GROSS, W.J., 1955. — Aspects of osmotic regulation in crabs showing the terrestrial habit. *Amer. Nat.*, 89, pp. 205-222.
- GROSS, W.J. and HOLLAND, P.V., 1960. — Water and ionic regulation in a terrestrial hermit crab. *Physiol. Zool.*, 33, pp. 21-28.
- IRVINE, F.R., 1947. — The Fishes and Fisheries of the Gold Coast. London. 352 p.
- JONES, L.L., 1941. — Osmotic regulation in several crabs of the Pacific coast of North America. *J. cell. comp. Physiol.*, 18, pp. 79-92.
- PATTON, J. and REEDER, W., 1956. — New indicator for titration of calcium with (ethylenedinitriolo) tetracetate. *Anal. Chem.*, 28, pp. 1.026-1.028.
- PEARSE, A.S., 1932. — Freezing points of bloods of certain littoral and estuarine animals. *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, 28, pp. 93-102.
- RAMSAY, J.A. and BROWN, R.H.J., 1955. — Simplified apparatus and procedure for freezing-point determinations upon small volumes of fluid. *J. Sci. Instrum.*, 32, pp. 372-375.
- SANDERSON, P.H., 1952. — Potentiometric determination of chloride in biological fluids. *Biochem. J.*, 52, pp. 502-505.
- SCHOLLES, W., 1933. — Über die Mineralregulation wasserlebender Evertebraten. *Z. Vergleich. Physiol.*, 19, pp. 522-554.
- TRONCHET, J., 1958. — La détermination complexométrique du calcium sérique. Proposition d'une technique de dosage direct. *Ann. Biol. Clin.*, 7-9, pp. 459-470.
- VALENCIA, R., 1956. — Spectrophotométrie de flamme et dosage des ions Na, K, Ca et Mg dans le plasma et les tissus. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, Paris, 38, pp. 1.071-1.081.