



Teneur en glycogène des branchies de *Carcinus maenas* (Crustacé, Décapode) : comparaison entre branchies antérieures et postérieures

F. CHAUSSON ET M. REGNAULT

Station Biologique de Roscoff
CNRS, INSU, UPMC (Paris VI)
BP 74, 29682 Roscoff Cedex France

Résumé : Chez les Crustacés décapodes euryhalins, les branchies postérieures se différencient des branchies antérieures par leur ultrastructure et leur fonction ; des études histo chimiques et cyto chimiques ont également révélé des différences quant à la distribution et la densité des granules de glycogène présents dans les branchies antérieures et postérieures. La présente étude a pour but de quantifier les réserves en glycogène et en glucose des branchies antérieures et postérieures du crabe *Carcinus maenas* en intermoult. La teneur moyenne en glycogène dans les branchies antérieures est de $56,54 \pm 8,84 \mu\text{g. mg}^{-1}$ de poids sec (PS) et dans les branchies postérieures, de $115,2 \pm 14,59 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS. L'estimation des réserves totales en glycogène montre que celles-ci sont quatre fois plus élevées dans les branchies postérieures que dans les branchies antérieures. En revanche, les teneurs en glucose des deux types de branchies sont faibles et non significativement différentes : $5,25 \pm 1,18 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS dans les branchies antérieures et $4,29 \pm 0,9 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS dans les branchies postérieures. Une éventuelle relation entre ces réserves énergétiques et la fonction des deux types de branchies est discutée.

Abstract: In euryhaline decapod Crustaceans, the ultrastructure and function of posterior gills are known to be different from those of anterior gills. Histochemical and cytochemical studies have also shown that both distribution and density of glycogen granules in anterior and posterior gills are not similar. This study was aimed at quantifying and comparing glycogen and glucose reserves of both anterior and posterior gills of the euryhaline crab *Carcinus maenas* at the intermoult stage. The mean glycogen content was $56.54 \pm 8.84 \mu\text{g. mg}^{-1}$ tissue dry weight (DW) and $115.20 \pm 14.59 \mu\text{g. mg}^{-1}$ DW in anterior and posterior gills, respectively. The glycogen amount stored in the posterior gills of a crab was four times as high as that stored in the anterior gills. Glucose content was low and similar in all gills: $5.25 \pm 1.18 \mu\text{g. mg}^{-1}$ DW and $4.29 \pm 0.90 \mu\text{g. mg}^{-1}$ DW in anterior and posterior gills, respectively. A possible relationship between these energetic stores and the function of each type of gills is discussed.

Keywords: glycogen, glucose, gills, euryhaline crab, *Carcinus maenas*.

Introduction

Chez les Crustacés décapodes, les branchies ont une double fonction : une fonction respiratoire et une fonction

iono-/osmorégulatrice. Les espèces euryhalines, qui ont des capacités ionorégulatrices étendues, présentent deux catégories de branchies qui, bien que morphologiquement semblables, diffèrent par leur ultrastructure (Barra *et al.*, 1983 ; Compère *et al.*, 1989 ; Goodman & Cavey, 1990 ; Taylor & Taylor, 1992) et leur fonction (Neufeld *et al.*, 1980 ; Péqueux *et al.*, 1984).

Reçu le 11 août 1995 ; received August 11 1995

Accepté le 26 février 1996 ; accepted February 26 1996.

Chez *Carcinus maenas*, l'ultrastructure des branchies a fait l'objet d'une étude approfondie par Compère *et al* (1989) et quelques points de cette étude seront brièvement rappelés :

- dans les branchies antérieures (situées sur les maxillipèdes 2 et 3), les lamelles branchiales présentent un épithélium mince couvert d'une fine cuticule. Cet épithélium est constitué en majorité de cellules épithéliales banales, minces, pauvres en mitochondries, ces dernières étant regroupées dans la partie apicale de la cellule. Les membranes apicales et basolatérales des cellules épithéliales présentent peu d'invaginations, quelle que soit la salinité environnante. La présence de glycogène, sous forme de fins granules disséminés uniformément dans le hyaloplasme des cellules épithéliales des branchies antérieures, a été signalée chez une autre espèce euryhaline, le crabe *Eriocheir sinensis* (Barra *et al.*, 1983) ;

- dans les branchies postérieures (situées sur les trois premières paires de pattes locomotrices), les lamelles branchiales présentent deux zones qui se différencient par leur opacité après fixation au glutaraldéhyde : une zone claire située dans la partie distale de la lamelle et une zone sombre localisée près du vaisseau afférent et du raphé. Cette zone sombre est moins développée chez *Carcinus maenas* que chez *Eriocheir sinensis*, où elle a été mise en évidence par traitement avec AgNO_3 (Barra *et al.*, 1983), mais sa surface, variable avec la salinité environnante, peut représenter chez *C. maenas* jusqu'à 30 % de la surface totale de la lamelle (Compère *et al.*, 1989). Dans la zone claire, les cellules épithéliales présentent une ultrastructure semblable à celle indiquée pour l'ensemble des cellules épithéliales des branchies antérieures et cette ultrastructure est peu affectée par les changements de salinité environnante. En revanche, l'épithélium de la zone sombre est épais et présente toutes les caractéristiques d'un épithélium transporteur de sels, tel qu'il a été décrit par Ciuffo (1984). Cette zone sombre est aussi caractérisée par la présence d'un septum intralamellaire qui sépare les deux couches de cellules épithéliales. La membrane apicale de ces cellules est modérément invaginée chez *C. maenas* lorsque les crabes sont adaptés à une salinité de 35 ‰ mais, après acclimatation de ces individus à une faible salinité (12 ‰), cette membrane apicale présente de nombreuses invaginations auxquelles sont associées de nombreuses mitochondries ; parallèlement, l'importance relative de la zone sombre dans la lamelle s'accroît (Compère *et al.*, 1989). Dans les branchies postérieures, le glycogène a été observé exclusivement dans le septum intralamellaire, sous forme d'amas larges et denses (Barra *et al.*, 1983) de rosettes plurigranulaires (Goodman & Cavey, 1990) ou dans des glycocytes (Lawson *et al.*, 1994) ; il apparaît donc restreint à la zone sombre des lamelles branchiales.

Chez les espèces euryhalines, branchies antérieures et branchies postérieures se distinguent aussi par leur fonction,

essentiellement respiratoire pour les branchies antérieures, iono-régulatrice pour les branchies postérieures. Celles-ci présentent de fortes activités enzymatiques, en particulier pour la Na^+/K^+ -ATPase comme l'ont observé Towle & Kays (1986) et Péqueux *et al* (1988), chez *Carcinus maenas*.

Cette différence de fonction entre les branchies antérieures et les branchies postérieures de *C. maenas* laisse supposer un métabolisme énergétique plus élevé, donc des ressources énergétiques plus importantes, dans les branchies postérieures de cette espèce. Or, à notre connaissance, aucune quantification de ces réserves n'a été effectuée. Cette étude a pour but d'évaluer et de comparer les teneurs en glycogène et en glucose des branchies antérieures et postérieures de *C. maenas* en intermède. La teneur en glucose de l'hémolymphé a été parallèlement déterminée.

Matériel et Méthodes

Des crabes *Carcinus maenas*, de taille moyenne comprise entre 6 et 8 cm, capturés au casier dans l'Aber de Roscoff pendant les mois de juillet et août ont été conservés en eau de mer courante (salinité de 35 ‰, circuit ouvert) et nourris tous les deux à trois jours pendant deux semaines au maximum. Les stades du cycle de mue ont été déterminés selon les critères de Drach (1939) ; leur identification repose sur l'observation au microscope de la partie distale des épipodites branchiaux (Tchernigovtzeff, 1965). Seuls les crabes en intermède (stades C₃ et C₄) ont été retenus pour cette étude. Avant dissection, l'hémolymphé prébranchiale a été prélevée, à l'aide d'une seringue à travers la membrane articulaire à la base de la quatrième paire de pattes, et conservée au réfrigérateur à 4°C dans des microtubes Eppendorf pendant 1 à 2 heures. Les crabes insensibilisés ont été dissequés sur un lit de glace et les branchies ont été prélevées : branchies antérieures (de la 2^e à la 5^e paire incluse) d'une part, et branchies postérieures (7^e, 8^e et 9^e paires) d'autre part. Elles ont été épongées sur papier filtre et leur poids frais (PF) a été déterminé au mg par double pesée ; elles ont ensuite été congelées par immersion dans de l'azote liquide et conservées à - 25°C. Le rapport poids sec / poids frais des branchies antérieures et des branchies postérieures a été parallèlement déterminé sur 20 crabes au stade C₄ (même récolte, même conditionnement préalable). Le poids sec (PS) a été obtenu après 48 heures à l'étuve ventilée à 100°C.

Protocole d'extraction

Après décongélation dans du méthanol (tissu : méthanol = 1:5), les branchies ont été découpées et broyées avec un homogénéiseur Polytron. Après centrifugation (20 minutes à 15 000 g), le surnageant a été écarté et le culot repris avec du chloroforme : méthanol (2:1) et recentrifugé à 15 000 g pendant 45 minutes. Le surnageant a été de nouveau écarté et le culot repris avec du méthanol 80 %. Après centrifugation (15 minutes à 15 000 g), les culots d'extrac-

tion ont été transférés dans des piluliers numérotés et tarés qui sont mis à sécher sur bain de sable à 60-65°C jusqu'à l'obtention du poids sec ; le résidu final représente le poids sec délipidé (PSD) des branchies. Deux échantillons de 50 mg de PSD ont été hydrolysés avec 1,5 ml de NaOH 2 N à 100°C pendant une heure. Les tubes ont été refroidis et le glycogène a été précipité par addition de Na₂SO₄ 20 % (100 µl) et d'alcool absolu (7,5 ml) pendant 1 heure 30 au minimum. Après centrifugation (10 minutes à 6 800 g), le surnageant a été écarté, le culot séché à l'étuve à 55°C puis redissous dans 2 ml d'eau bidistillée.

Dosage du glycogène

Deux parties aliquotes (50 µl) de cette solution ont été utilisées pour le dosage du glycogène ; une série de standards (20 à 80 µg de glycogène d'huître Sigma) a été menée parallèlement aux échantillons. Le glycogène a été converti en glucose par l'α-amylaglucosidase à pH 4,5 (tampon acétate 0,05 N) à 55°C pendant 30 minutes. L'aliquote non traitée avec l'α-amylaglucosidase a permis d'estimer le glucose endogène.

Dosage du glucose

Le dosage du glucose a été réalisé à l'aide de deux enzymes : la glucose oxydase et la peroxydase en présence de O-dianisidine (kit Sigma n°510) sur des échantillons préalablement déprotéinés (Zn(OH)₂). Toutes les densités

optiques ont été lues à 440 nm contre le blanc et converties en équivalents glucose grâce au standard glucose 100 µg. Le glucose provenant du glycogène a été obtenu par la différence (glucose total - glucose endogène) et converti en µg de glycogène à l'aide de la gamme standard de glycogène. Le dosage du glucose dans l'hémolymph (fraîchement prélevée) a été réalisé de la même façon et en parallèle avec des standards glucose (25 µg, 50 µg, 75 µg, 100 µg).

Pour chaque type de branchies, les teneurs moyennes en glycogène et en glucose ont été calculées ainsi que la teneur moyenne en glucose dans l'hémolymph. Les résultats sont exprimés en µg de glycogène (ou glucose). mg⁻¹ PSD de tissu et en µg de glucose. ml⁻¹ pour l'hémolymph. Les valeurs moyennes sont données avec l'écart standard à la moyenne (SEM) et le test statistique unilatéral pour des échantillons appariés de Wilcoxon-Mann-Whitney a été utilisé pour comparer les valeurs obtenues.

Résultats

Teneur en glycogène des branchies

La teneur en glycogène des branchies de *C. maenas* a été évaluée chez 14 crabes au stade C4 (Tableau 1). La teneur moyenne en glycogène dans les branchies postérieures est de 161,3 ± 20,42 µg . mg⁻¹ PSD (n = 14). Dans les branchies antérieures, elle est de 79,1 ± 12,3 µg . mg⁻¹ PSD et signifi-

Tableau 1. Glycogène branchial (GLY) exprimé en µg.mg⁻¹ de poids sec et délipidé (PSD) de tissu, chez *Carcinus maenas* en intermue.
Tableau 1. Branchial glycogen (GLY) in µg.mg⁻¹ of lipid-free dry weight (PSD) of tissue, in intermoult *Carcinus maenas*.

crabe	Branchies Postérieures (BP)			Branchies Antérieures (BA)			GLY. BA / GLY. BP
	PF (mg)	PSD (mg)	Glycogène (µg. mg ⁻¹ PSD)	PF (mg)	PSD (mg)	Glycogène (µg.mg ⁻¹ PSD)	
1	1604	174	154.88	1002	87	90.05	-
2	1214	108	121.12	604	50	64.08	0.53
3	1993	151	250.56	912	51	167.44	0.67
4	728	93	86.80	342	49	43.20	0.50
5	785	90	171.40	343	51	97.90	0.52
6	544	82	97.80	287	47	43.20	0.44
7	935	130	280.00	403	53	76.48	0.27
8	531	94	126.08	261	42	79.60	0.63
9	1032	116	47.68	341	54	27.52	0.58
10	692	96	218.24	351	42	140.51	0.64
11	793	86	179.68	397	49	62.33	0.35
12	771	103	231.44	287	39	52.00	0.22
13	643	80	47.69	374	39	13.51	0.28
14	523	69	244.64	198	31	150.34	0.61
X ± SEM	913 ± 114.6	105 ± 7.8	161.3 ± 20.42	436 ± 64.1	49 ± 3.4	79.1 ± 12.3	0.49 ± 0.04

BA : 2^e à 5^e paires de branchies ; BP : 7^e à 9^e paires de branchies ; PF : poids frais de tissu ; valeur moyenne (X) ± écart standard à la moyenne (SEM).

BA : from the 2nd to the 5th pair of gills; BP: from the 7th to the 9th pair of gills; PF: tissue wet weight. Mean value (X) ± standard error to the mean (SEM).

cativement différente ($0,001 < P < 0,005$) en dépit d'une grande variabilité individuelle. La valeur moyenne du rapport glycogène des branchies antérieures / glycogène des branchies postérieures est de $0,49 \pm 0,04$ ($n = 14$).

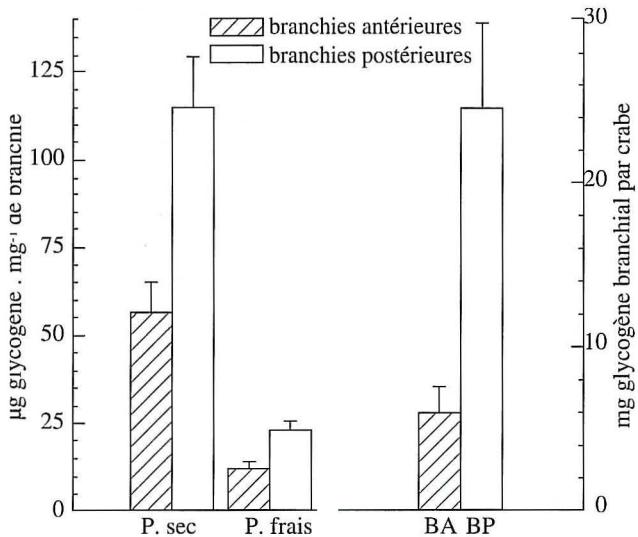


Figure 1. Teneurs en glycogène des branchies antérieures et postérieures du crabe euryhalin *Carcinus maenas* au stade C₄, exprimées en fonction du poids sec et du poids frais des branchies. La quantité totale de glycogène dans les branchies antérieures (BA) et postérieures (BP) de chaque crabe est exprimée en mg par crabe (valeurs moyennes \pm écart standard à la moyenne, $n = 14$).

Figure 1. Glycogen content of anterior and posterior gills of the euryhaline crab *Carcinus maenas* at the C₄ stage, expressed as both $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ tissue dry weight and $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ tissue wet weight. Total glycogen content of anterior (BA) and posterior (BP) gills is expressed as $\text{mg}.\text{crab}^{-1}$ (mean value \pm standard error to the mean (SEM), $n = 14$).

Chez les crabes étudiés, le rapport PSD / PS des branchies est compris entre 0,5 et 0,7 ; la valeur moyenne de ce rapport étant de $0,59 \pm 0,026$ et de $0,62 \pm 0,025$ respectivement pour les branchies postérieures et les branchies antérieures, un rapport moyen de 0,60 a été utilisé pour les deux types de branchies. Il est probable que ce rapport soit légèrement sous-estimé, du fait de pertes lors des manipulations, en particulier lors de l'extraction avec le chloroforme (culot de centrifugation plus ou moins ferme). Ce rapport nous a permis d'exprimer les teneurs en glycogène par mg de poids sec de tissu (Fig. 1). Celles-ci sont de $115,2 \pm 14,59 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PS ($n = 14$) dans les branchies postérieures et de $56,54 \pm 8,84 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PS ($n = 14$) dans les branchies antérieures.

Le rapport PS/PF du tissu branchial, estimé à partir de 20 échantillons de branchies antérieures et postérieures montre que PS représente de 20 à 25 % du poids frais, aussi bien pour les branchies antérieures que postérieures ; un rapport

moyen de $0,22 \pm 0,003$ a été calculé pour l'ensemble des branchies. Ceci nous a permis d'exprimer les teneurs en glycogène par unité de poids frais. Elles sont donc de $22,88 \pm 3,28 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PF ($n = 14$) dans les branchies postérieures et de $12,68 \pm 1,99 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PF ($n = 14$) dans les branchies antérieures. A partir de ces valeurs et du poids frais des branchies de chaque crabe (Tableau 1), les réserves moyennes en glycogène des branchies de *C. maenas* ont été évaluées : pour les 14 crabes étudiés, elles sont de $24,69 \pm 5,24 \text{ mg par crabe}$ dans les branchies postérieures et de $6,04 \pm 1,69 \text{ mg par crabe}$ dans les branchies antérieures. Ainsi, il apparaît que les branchies postérieures renferment 4 fois plus de glycogène que les branchies antérieures ; ce mode d'expression accroît encore la différence notée précédemment (Tableau 1), entre les branchies antérieures et les branchies postérieures.

Glucose branchial

Les branchies contiennent très peu de glucose. La teneur moyenne en glucose dans les branchies postérieures est de $4,29 \pm 0,9 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PS ($n = 14$), soit $0,96 \pm 0,2 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PF. Dans les branchies antérieures, la teneur moyenne en glucose est de $5,25 \pm 1,18 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PS ($n = 14$), soit $1,18 \pm 0,27 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ PF (Fig. 2). Il n'existe donc pas de

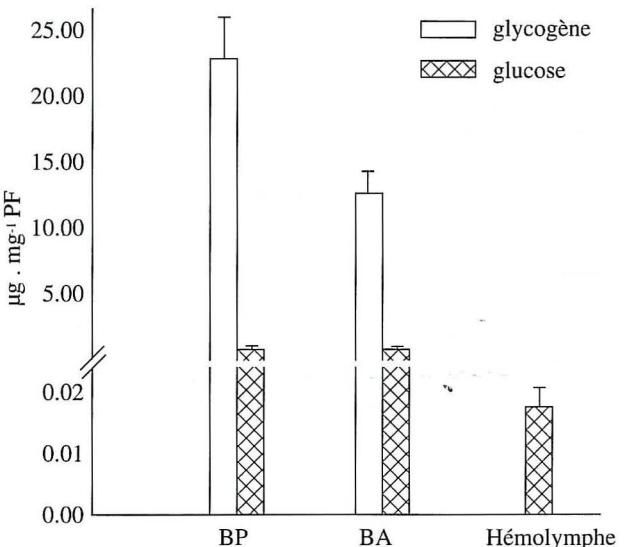


Figure 2. Teneurs en glycogène et en glucose ($\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ poids frais de tissu) des branchies postérieures (BP) et antérieures (BA) de *Carcinus maenas* au stade C₄ (valeurs moyennes \pm écart standard à la moyenne, $n = 14$). Pour comparaison, la teneur en glucose de l'hémolymph ($18 \pm 3,72 \mu\text{g.ml}^{-1}$, $n = 26$) est exprimée en $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ poids frais d'hémolymph.

Figure 2. Glycogen and glucose contents ($\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ tissue wet weight) of posterior (BP) and anterior (BA) gills of *Carcinus maenas* at the C₄ stage; (mean values \pm SEM, $n = 14$). For comparison, haemolymph glucose content ($18 \pm 3.72 \mu\text{g.ml}^{-1}$, $n = 26$) is expressed as $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ haemolymph wet weight.

différence significative entre les teneurs en glucose des branchies antérieures et des branchies postérieures. La teneur moyenne en glucose pour l'ensemble des branchies est de $4,77 \pm 0,74 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS ($n = 28$), soit $1,07 \pm 0,16 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PF.

Glucose dans l'hémolymphhe

La teneur en glucose dans l'hémolymphhe est en moyenne de $18 \pm 3,72 \mu\text{g. ml}^{-1}$ d'hémolymphhe ($n = 26$). Pour comparer cette valeur au glucose branchial, elle a été exprimée en $\mu\text{g. mg}^{-1}$ PF d'hémolymphhe (Fig. 2). Une influence éventuelle du glucose sanguin sur l'estimation du glucose branchial (branchies prélevées *in toto* c'est-à-dire contenant de l'hémolymphhe) peut être écartée car la teneur de l'hémolymphhe est si faible comparée à la teneur en glucose des branchies ($18 \mu\text{g. g}^{-1}$ PF dans l'hémolymphhe contre $1\,070 \mu\text{g. g}^{-1}$ PF dans les branchies) qu'elle ne peut affecter les valeurs obtenues pour le glucose branchial estimées sur des branchies totales non exsangues.

Discussion

Chez les Décapodes et les crabes en particulier, les réserves en glycogène des tissus fluctuent au cours du cycle d'intermue ; ces variations cycliques ont été étudiées dans l'hépatopancréas et l'hypoderme de *Cancer pagurus* (Renaud, 1949) et dans divers tissus (muscle, cœur, épiderme et branchies) de *Carcinus maenas* (Spindler-Barth, 1976). Selon ces auteurs, la teneur en glycogène dans tous les tissus étudiés est minimale au stade C₃. Pendant le stade C₄, le glycogène s'accumule dans l'hépatopancréas, mais reste à son niveau minimal dans les branchies. En prémue, la teneur en glycogène des branchies augmente (elle est maximale en D₂) et une partie du glycogène hépatopancreatique migre vers l'hypoderme où il sera utilisé pour la synthèse des couches post-exuviales de la nouvelle cuticule.

A l'exception de l'épicuticule, la cuticule est essentiellement formée d'un complexe de protéines et de chitine. La chitine (polymère d'unités N-acétyl-D-glucosamine liées en β 1-4) est synthétisée à partir du glucose (via la glucosamine-6P) ou de l'acetylglucosamine (GlcNAc). Cette synthèse, qui requiert un intermédiaire lipidique et une synthèse protéique parallèle, comporte plusieurs étapes qui ont été définies et résumées par Horst (1990). En bref, l'UDP-GlcNAc une fois formée s'associe à un phospholipide, puis s'enrichit en résidus GlcNAc pour former un oligomère de 6 à 8 résidus GlcNAc ; cet oligosaccharide est ensuite transféré du phospholipide porteur à un accepteur (polypeptide / protéine) ; la glycosylation de ce nouveau composé, via la chitine synthétase, conduira à la formation du complexe chitine-protéine de la cuticule. D'après Speck *et al* (1972), seuls les résidus GlcNAc provenant de l'hydrolyse de l'ancienne cuticule sont utilisés en prémue (stade D) pour la synthèse de la chitine, alors qu'en post-mue (stades A et B), la chitine

est biosynthétisée à partir de glucose et de glycogène. Ainsi, le renouvellement de l'exosquelette au cours du cycle de mue induit des variations cycliques de certaines réserves corporelles, en particulier du glycogène.

Dans cette étude, les crabes étant en intermue, stade C₄ particulièrement long chez *Carcinus maenas* adulte (Broekhuysen, 1937), les réserves en glycogène des branchies ne sont pas affectées par le cycle de mue. De plus, conformément à Spindler-Barth (1976), elles indiquent le niveau minimum de glycogène branchial chez cette espèce. Nos résultats montrent que, chez *C. maenas* en intermue, les branchies antérieures renferment moins de glycogène ($56,54 \pm 8,84 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS) que les branchies postérieures ($115,2 \pm 14,59 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS). Lorsque la teneur en glycogène des deux types de branchies est exprimée en fonction de l'unité de poids (PSD ou PS) de tissu, le rapport des teneurs moyennes en glycogène est de un demi ($0,49 \pm 0,04$). Les valeurs obtenues pour les branchies antérieures et les branchies postérieures sont dans les deux cas supérieures à celles indiquées par Spindler-Barth (1976) pour toutes les branchies confondues de cette espèce ($\equiv 10 \mu\text{g. mg}^{-1}$ PS), au stade C₄. Indépendamment de l'existence de variations saisonnières toujours possibles, il semble que la méthodologie (extraction et dosage à l'anthrone) disponible à l'époque ait conduit à une sous-estimation des teneurs en glycogène. Dans le cas présent, la grande sensibilité et la spécificité du dosage enzymatique ne peuvent être source d'erreur ; toutefois, on ne peut totalement exclure la possibilité d'une légère surestimation en ce qui concerne les valeurs exprimées en $\mu\text{g. mg}^{-1}$ PS compte tenu de l'interférence du rapport PSD/PS dans le calcul (sous-estimation possible du PSD). Cependant, comme l'erreur est semblable pour les deux types de branchies, cela ne modifie en rien le rapport GLY BA / GLY BP du tableau 1 et la différence entre les deux types de branchies est significative.

L'estimation des réserves totales en glycogène, exprimées en mg par crabe, révèle que celles-ci sont 4 fois plus élevées dans les branchies postérieures ($24,69 \pm 5,24$ mg) que dans les branchies antérieures ($6,04 \pm 1,69$ mg). Cette différence concorde avec les observations antérieures, recueillies lors d'études cytochimiques et ultrastructurales, quant à la distribution et à la densité des réserves de glycogène dans les branchies de Crustacés décapodes euryhalins (Barra *et al*, 1983). D'après ces auteurs, le glycogène se présente sous la forme de fins granules disséminés dans toute la cellule épithéliale dans les branchies antérieures alors qu'il forme de larges amas compacts localisés uniquement dans le septum médian de la zone sombre des branchies postérieures.

D'après Spindler-Barth (1976), le glycogène n'interviendrait pas seulement dans la synthèse de la nouvelle cuticule mais serait aussi une source d'énergie métabolique pour l'animal pendant la période de jeûne correspondant à la

période de mue. L'utilisation du glycogène branchial comme substrat énergétique lors de l'acclimatation de *Carcinus maenas* à un milieu hypotonique a été proposée par Welcomme & Devos (1991) au vu du transport actif du glucose lors d'échanges ioniques accrus. Onken & Putzenlechner (1995) ont noté, chez *Eriocheir sinensis*, que les branchies postérieures ont une teneur en protéines 7 fois plus élevée que les branchies antérieures et ces auteurs attribuent cette différence à la présence, dans les branchies postérieures, de canaux membranaires et de protéines jouant le rôle de transporteur d'ions (pompes).

Neufeld *et al* (1980) ont montré que l'activité spécifique de la Na^+/K^+ -ATPase est supérieure dans les branchies postérieures de *Callinectes sapidus*. Ceci a été confirmé ultérieurement par Towle & Kays (1986) qui ont localisé, chez *C. sapidus* et chez *C. maenas*, les pompes Na^+/K^+ -ATPases dans la membrane basolatérale des cellules de l'épithélium branchial. De plus, ces auteurs ont montré que l'activité spécifique de la Na^+/K^+ -ATPase dans la zone sombre des lamelles des branchies postérieures est 7 fois plus élevée que dans la zone claire de ces mêmes lamelles et 14 fois plus élevée que dans les branchies antérieures. De même, les H^+ -ATPases vacuolaires de type V, chez *Eriocheir sinensis*, présentent une plus grande activité spécifique dans les branchies postérieures que dans les branchies antérieures (Onken & Putzenlechner, 1995). Ces deux types de pompes, Na^+/K^+ -ATPases et V-ATPases, ont besoin d'énergie pour fonctionner (Péqueux *et al*, 1988 ; Onken & Putzenlechner, 1995). Par ailleurs, Böttcher & Siebers (1993) ont observé, chez les crabes euryhalins et en particulier *C. maenas*, que l'anhydrase carbonique qui permet les échanges de CO_2 et/ou de HCO_3^- joue aussi un rôle dans l'osmorégulation, notamment par l'approvisionnement des pompes Na^+/K^+ -ATPases en ions Na^+ . Or, le niveau d'activité de l'anhydrase carbonique dans les branchies de 2 crabes euryhalins *Callinectes sapidus* et *C. similis* est plus élevé dans les branchies postérieures que dans les branchies antérieures (Piller *et al.*, 1995), l'activité spécifique de l'enzyme augmentant lorsque la salinité du milieu environnant diminue.

Une activité ATP-asique élevée est la caractéristique d'un épithélium transporteur de sels ; dans les branchies postérieures de *Carcinus maenas*, ce type d'épithélium occupe jusqu'à 30 % de la surface des lamelles branchiales et il est en contact étroit avec le septum intralamellaire (Compère *et al*, 1989) où sont situées les réserves de glycogène (Barra *et al*, 1983). La présence de glycogène à proximité de celles épithéliales, riches en pompes Na^+/K^+ -ATPases dans leur membrane basolatérale et en pompes V-ATPases dans leur membrane plasmique apicale, suggère que le glycogène pourrait être la source d'énergie nécessaire au transport de sels. De ce fait, la dissymétrie observée dans la répartition et la concentration du glycogène entre branchies antérieures et branchies postérieures pourrait être liée à la répartition spé-

cifique des pompes ATPasiques dans ces deux types de branchies. Cette étude a montré que la teneur en glucose des branchies était faible comparée à la teneur en glycogène et qu'elle était semblable dans les branchies antérieures et postérieures. Ceci peut refléter l'utilisation continue du glucose comme source d'énergie, mais dans ce cas, les ressources de glycogène tendraient à diminuer. Il est plus vraisemblable que le glycogène soit le pool énergétique principal, disponible pour faire face à une augmentation des besoins énergétiques (adaptation à une basse salinité).

En conclusion, cette étude démontre pour la première fois que chez les Crustacés décapodes euryhalins, les différences entre branchies antérieures et branchies postérieures, déjà mises en évidence aux niveaux ultrastructural et fonctionnel, s'accompagnent de différences quantitatives dans les réserves en glycogène. Ceci a vraisemblablement une incidence sur le métabolisme énergétique respectif des deux types de branchies, c'est-à-dire sur leur fonction de régulation, notamment lors de l'adaptation à des changements de salinité du milieu extérieur. L'évolution des réserves en glycogène propres à chaque type de branchies, chez *Carcinus maenas* au cours du cycle de mue d'une part, et en réponse à un choc hypo-osmotique d'autre part, devrait nous permettre de tester cette hypothèse.

Remerciements

Les auteurs sont particulièrement reconnaissants au Dr Philippe Compère pour ses commentaires très constructifs et ses encouragements.

Références

- Barra, J.A., A. Péqueux & W. Humbert, 1983.** A morphological study on gills of a crab acclimated to fresh water. *Tissue & Cell*, **15** (4) : 583-596.
- Böttcher, K. & D. Siebers, 1993.** Biochemistry, localization, and physiology of carbonic anhydrase in the gills of euryhaline crabs. *Journal of Experimental Zoology*, **265** : 397-409.
- Broekhuysen, G.J., 1937.** On development, growth and distribution of *Carcinides maenas* (L.). *Archives Néerlandaises de Zoologie*, **2** : 257-382.
- Cioffi, M., 1984.** Comparative ultrastructure of arthropod transporting epithelia. *American Zoologist*, **24** : 139-156.
- Compère, Ph., S. Wançon, A. Péqueux, R. Gilles & G. Goffinet, 1989.** Ultrastructural changes in the gill epithelium of the green crab *Carcinus maenas* in relation to the external salinity. *Tissue & Cell*, **21** (2) : 299-318.
- Drach, P., 1939.** Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Annales de l'Institut Océanographique*, **19** : 103-391.
- Goodman, S.H. & M.J. Cavey, 1990.** Organization of a phyllobranchiate gill from the green shore crab *Carcinus maenas* (Crustacea Decapoda). *Cell and Tissue Research*, **260** : 495-505.
- Horst, M.N., 1990.** Concurrent protein synthesis is required for *in vivo* chitin synthesis in postmolt blue crabs. *Journal of Experimental Zoology*, **256** : 242-254.

- Lawson, S.L., M.B. Jones & R.M. Moate, 1994.** Structural variability and distribution of cells in a posterior gill of *Carcinus maenas* (Decapoda, Brachyura). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **74** : 771-785.
- Neufeld, G.J., C.W. Holliday & J.B. Pritchard, 1980.** Salinity adaptation of gill Na/K-ATPase in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Journal of Experimental Zoology*, **211** : 215-224.
- Onken, H. & M. Putzenlechner, 1995.** A V-ATPase drives active, electrogenic and Na^+ independent Cl^- absorption across the gills of *Eriocheir sinensis*. *Journal of Experimental Biology*, **198** : 767-774.
- Péqueux, A., A. Marchal, S. Wanson & R. Gilles, 1984.** Kinetic characteristics and specific activity of gill (Na^++K^+)ATPase in the euryhaline chinese crab, *Eriocheir sinensis*, during salinity acclimatation. *Marine Biology Letters*, **5** : 35-45.
- Péqueux, A., R. Gilles & W.S. Marshall, 1988.** NaCl transport in gills and related structures. In : *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. (R. Greger ed.). Vol.2, pp. 1-73. Springer -Verlag : Heidelberg.
- Piller, S.C., R.P. Henry, J.E. Doeller & D.W. Kraus, 1995.** A comparison of the gill physiology of two euryhaline crab species, *Callinectes sapidus* and *Callinectes similis* : energy production, transport-related enzymes and osmoregulation as a function of acclimation salinity. *Journal of Experimental Biology*, **198** : 349-358.
- Renaud, L., 1949.** Le cycle de réserves organiques chez les Crustacés Décapodes. *Annales de l'Institut Océanographique*, **24** : 259-357.
- Speck, U., K. Urich & U. Herz-Hübner, 1972.** Nachweis einer Regulation der Glucosaminbildung bei dem Flußkrebs *Orconectes limosus* zur Zeit der Häutung. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, **76** : 341-346.
- Spindler-Barth, M. 1976.** Changes in the chemical composition of the common shore crab, *Carcinus maenas*, during the molting cycle. *Journal of Comparative Physiology*, **105B** : 197-205.
- Taylor, H.H. & E.W. Taylor, 1992.** Gills and lungs : the exchange of gases and ions. In : *Microscopical Anatomy of Invertebrates*. (F.W. Harrison & A.G. Humes ed.). Volume 10 : Decapod Crustacea, pp. 203-293. WILEY-LISS : New-York.
- Tchernigovtzeff, C., 1965.** Multiplication cellulaire et régénération au cours du cycle d'intermue des Crustacés Décapodes. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, **106** : 383-390.
- Towle, D.W. & W.T. Kays, 1986.** Basolateral localization of Na^++K^+ -ATPase in gill epithelium of two osmoregulating crabs, *Callinectes sapidus* and *Carcinus maenas*. *Journal of Experimental Zoology*, **239** : 311-318.
- Welcomme, L. & P. Devos, 1991.** Energy consumption in the perfused gills of the euryhaline crab, *Eriocheir sinensis* adapted to fresh water. *Journal of Experimental Zoology*, **257** : 150-159.