

Perméabilité cuticulaire et ionorégulation chez les Crustacés Décapodes.

A. Péqueux et J. Lignon*

Université de Liège, Laboratoire de Physiologie Animale, 22, quai Van Beneden, B-4020 Liège, Belgique

*Laboratoire d'Études des Régulations Physiologiques, CNRS,
23, rue Becquerel, F-67087 Strasbourg, France.

Résumé : Le présent travail établit que la cuticule des crustacés décapodes revêt une signification physiologique importante.

Il est démontré que la cuticule de l'épithélium branchial contribue à réduire les pertes ioniques diffusionnelles chez les espèces régulatrices et à favoriser l'entrée d'ions au niveau de canaux spécifiques proches des endroits où prend place l'absorption active par les cellules épithéliales.

D'une étude comparée portant sur des espèces aux performances ionorégulatrices diverses, il ressort que la perméabilité aux ions de la cuticule est nettement plus basse chez les espèces régulatrices que chez les espèces osmoconformes ; en outre, la cuticule des espèces osmoconformes ne présente pas de sélectivité ionique marquée.

Sélectivité et perméabilité cuticulaires aux ions inorganiques seraient donc en relation directe avec le pouvoir ionorégulateur. Chez les espèces osmoconformes, la cuticule branchiale est fortement perméable à toutes les espèces ioniques. Chez les espèces régulatrices par contre, elle est nettement moins perméable mais présente des sites de haute conductivité aux ions Cl^- ou Na^+ en fonction des caractéristiques de l'épithélium sous-jacent.

Abstract : The ionic permeabilities of the isolated gill cuticle have been deduced from diffusional transcuticular potential and conductance measurements in several species of decapod crustaceans. It is established that the cuticle permeability depends upon the species considered and its ionoregulation capability, upon the localization of the gill in the gill chamber or even upon the topographic region in a single gill and upon the nature of the ionic species.

In each case the cuticle must always be considered as a diffusion barrier for the main osmotic effectors, Na^+ and Cl^- . However, the efficiency of this barrier is low in the case of the stenohaline osmoconformers, *Homarus*, *Nephrops*, *Maia*. In hyperregulators such as *Astacus*, *Eriocheir* and *Carcinus*, the efficiency of the cuticular barrier is much higher. The cuticle permeability of the crayfish gill lamina is low for all ionic species but Cl^- . In the crayfish gill filaments and in crab gills, permeability to cations is high, but permeability to Cl^- is low.

In hyperregulators, the cuticle exhibits important differences in its electrical characteristics between the various pairs of gills or even between different topographic regions of the same gill. It shows in addition a functional asymmetry which favours ionic influxes. This asymmetry is almost inexistent in osmoconforming species.

The physiological significance of the cuticle is discussed in relation to the ionoregulation capability of the species and more particularly to the subcuticular spaces described in all gill epithelia of hyperregulator crustacea facing reduced salinity. It is propound that the gill cuticle contributes to reduce ionic leaks in regulators and yet allows for the entry of ions across specific channels at the sites where active uptake takes place.

INTRODUCTION

Chez les espèces de crustacés capables de contrôler la composition de leur hémolymphé en milieu de salinité réduite, un équilibre existe entre des pertes diffusionnelles d'ions inorganiques Na^+ et Cl^- et des mécanismes de transport actif dépendant de pompes primaires. A ce jour, de nombreux travaux ont été consacrés à l'analyse de ces transports primaires situés essentiellement au niveau des structures branchiales (pour revue, consulter par exemple : Mantel & Farmer, 1983 ; Péqueux & Gilles, 1988). Fondamentalement, les branchies des

crustacés sténohalins marins diffèrent de celles des sténohalins d'eau douce en trois points que l'on retrouve d'ailleurs chez les espèces euryhalines transférées d'eau de mer en eau diluée : (1) le développement d'un épithélium transporteur et de larges espaces sous-cuticulaires, (2) une augmentation d'activité (NaK)ATPasique et, (3) une stimulation d'activité des mécanismes de transport actif. On connaît par contre très peu de choses sur la perméabilité des surfaces branchiales et extrabranchiales bien que quelques arguments expérimentaux suggèrent que, *in vivo*, la perméabilité apparente des crustacés soit réduite en milieu dilué (Lockwood, 1977 ; Mantel & Farmer, 1983 ; Péqueux & Gilles, 1988).

En première analyse, les mouvements diffusionnels dépendent de la perméabilité de deux barrières anatomiques bien identifiables : un épithélium qui offre des voies de passage transcellulaires et paracellulaires, et une strate cuticulaire. Jusqu'à présent, le physiologiste a pratiquement ignoré cette cuticule dans ses modèles fonctionnels mais il apparaît comme évident qu'une compréhension précise et complète des mécanismes impliqués dans les mouvements ioniques au niveau branchial ne pourra être atteinte sans une étude des propriétés de perméabilité de cette cuticule.

Depuis Krogh (1938-1939), on a toujours considéré l'épaisse cuticule couvrant le corps de l'organisme comme *imperméable* tandis que la cuticule branchiale ne pouvait être que hautement perméable. Ceci impliquait que, chez les crustacés, la perméabilité ne dépendait que de l'épithélium branchial. Toutefois, Gross (1957) a démontré que la carapace isolée des crabes est bien perméable aux sels et à l'eau. D'autre part, les travaux de Smith et Linton (1971) suggèrent que la cuticule branchiale (exuvies ; branchies tuées) du crabe bleu *Callinectes sapidus* est plus perméable aux ions Na^+ qu'aux ions Cl^- .

Il ressort donc de ce qui précède que les rôles respectifs de l'épithélium et de la cuticule dans la régulation ionique chez les crustacés restent un problème non résolu. Dans l'analyse qui va suivre, nous allons tenter de définir le niveau de perméabilité de la cuticule de divers crustacés décapodes en relation avec le régime de salinité des espèces concernées. Nous tenterons ensuite d'intégrer cuticule et épithélium ainsi que leurs propriétés respectives dans un complexe fonctionnel épithélio-cuticulaire.

PERMÉABILITÉ ET SÉLECTIVITÉ IONIQUE DE LA CUTICULE DE CRUSTACÉS DÉCAPODES.

Cette analyse a été menée sur des cuticules branchiales et extrabranchiales de diverses espèces de crustacés brachyures et macroures appartenant aux diverses catégories écophysiologiques généralement reconnues, à savoir (1) des espèces conformes sténohalines marines (*Maia squinado*, *Homarus gammarus* et *Nephrops norvegicus*), (2) une espèce conforme euryhaline (*Cancer pagurus*), (3) une espèce euryhaline modérément régulatrice (*Carcinus maenas*) et (4) des espèces capables d'un haut niveau de régulation (*Astacus leptodactylus* et *Eriocheir sinensis*).

Les propriétés de perméabilité de la cuticule de ces espèces ont été essentiellement analysées par des méthodes électrophysiologiques reposant sur des déterminations de différen-

ce de potentiel électrique et des mesures de résistance électrique dans différentes conditions d'environnement ionique (Lignon, Péqueux & Gendner, 1988).

Il ressort de cette étude qu'il existe une corrélation très nette entre les propriétés de perméabilité aux ions inorganiques des cuticules des diverses espèces considérées et la nature du milieu, c'est-à-dire la salinité à laquelle ces espèces sont confrontées.

Les résultats réunis dans le tableau 1 établissent en effet clairement que trois niveaux de conductance au $MgSO_4$ peuvent être distingués pour les cuticules de branchie, du tube digestif et pour la carapace : une conductance élevée, une moyenne et une basse (pour mémoire, la conductance au $MgSO_4$ offre une bonne mesure approchée des facteurs limitants des flux des autres espèces ioniques ; Lignon, Péqueux & Gendner, 1988). Ces niveaux de conductance peuvent être mis en relation directe avec les trois groupes écophysiologiques sus-mentionnés. Il apparaît, par exemple, que les cuticules calcifiées et molles limitant le corps et le tube digestif chez les espèces régulatrices sont de 500 à 5 000 fois moins perméables que chez les espèces conformes. En outre, pour chaque espèce considérée, la cuticule branchiale est toujours le plus perméable tandis que celles de la carapace et du tube digestif sont le moins perméables. Il apparaît toutefois que la cuticule branchiale des espèces très régulatrices reste moins perméable que la carapace des espèces conformes.

En conclusion, les cuticules branchiale et extrabranchiale des espèces régulatrices sont beaucoup moins perméables aux sels que celles des espèces conformes.

La cuticule apparaît donc bien comme une structure complémentaire à l'épithélium lorsque l'on considère le problème de l'ionorégulation. En effet, la réduction de la perméabilité cuticulaire chez les espèces régulatrices en milieu dilué ne peut générer qu'une situa-

TABLEAU I

Conductances cuticulaires de branchies, tube digestif et carapace de quelques espèces de crustacés décapodes appartenant à des catégories écophysiologiques différentes.

Milieu	Espèce animale	Branchie	Intestin	Carapace
ED	<i>Astacus leptodactylus</i>	0.3	0.005	0.001
ED/EM	<i>Eriocheir sinensis</i>	1.9	0.030	0.007
ES/EM	<i>Carcinus maenas</i>	5.2	0.180	0.200
ES/EM	<i>Cancer pagurus</i>	9.1		0.600
EM	<i>Maia squinado</i>	60.0	1.600	2.800
EM	<i>Homarus gammarus</i>	272.0		4.570
EM	<i>Nephrops norvegicus</i>	300.0		
Conductance cuticulaire (mS/cm^2) au $MgSO_4$ (100 mmol/l) (n = 5 to 7)				

Ces valeurs, mesurées sur des cuticules baignées par du $MgSO_4$ 100 mmol/l, correspondent à des moyennes de 5-7 expériences exprimées en mS/cm^2 .

ED = eau douce

ES = eau saumâtre

EM = eau de mer

tion favorable à une limitation significative des fuites diffusionnelles d'ions. Elle suggère d'autre part que l'espace anatomique sous-cuticulaire du tissu branchial doit revêtir une signification fonctionnelle particulière qu'il conviendrait d'identifier. Nous verrons par la suite qu'il pourrait être le site de processus de recyclage d'ions limitant, voire même enrayant, les fuites diffusionnelles au travers de la cuticule et donc être un des moteurs de la réduction de perméabilité apparente de l'épithélium qui a été démontrée chez des espèces régulatrices puissantes comme le crabe chinois.

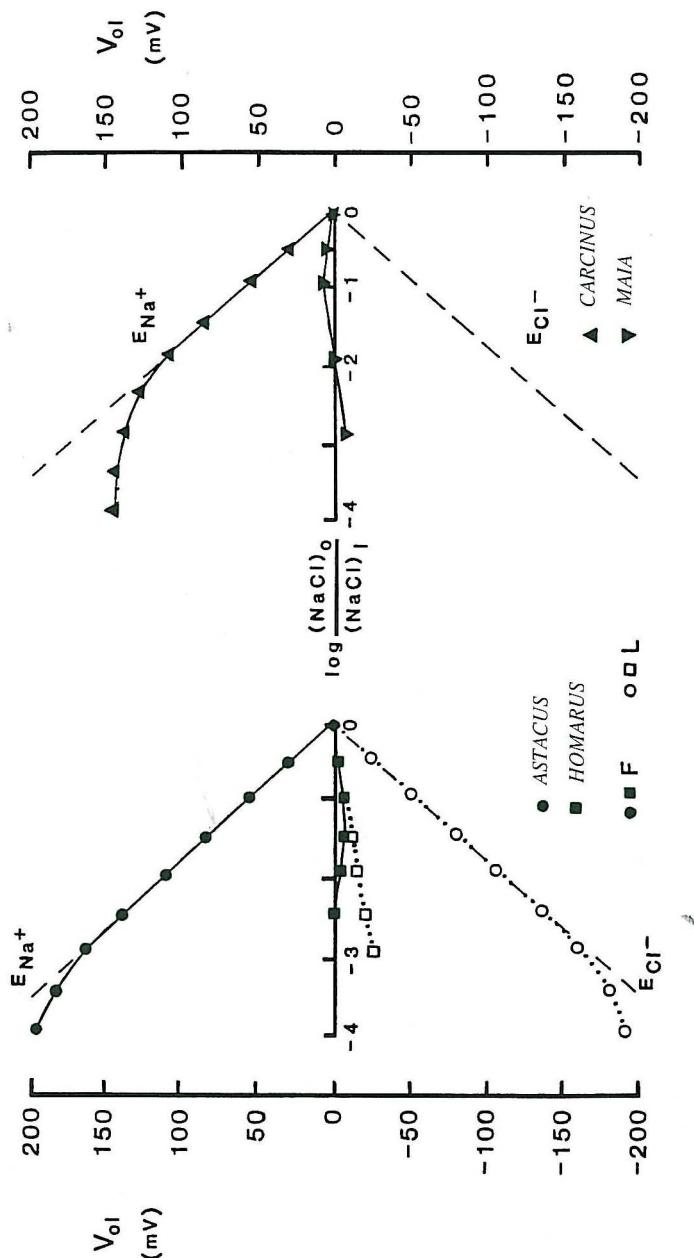
Nous venons de voir que, chez les espèces régulatrices, la cuticule présente des caractéristiques de perméabilité réduite. Au niveau des branchies, cette forme d'imperméabilisation revêt un caractère particulier de sélectivité que l'on n'observe pas chez les espèces sténohalines conformes, ni au niveau des cuticules extrabranchiales. Cette sélectivité se traduit par une haute perméabilité à une espèce ionique déterminée (10^{-3} cm/s) soit anionique (Cl^- ou OH^- dans la lame branchiale d'écrevisse), soit cationique (Na^+ , Ca^{++} ou NH_4^+ dans les autres cas). Les résultats rapportés sur la figure 1 illustrent quelques exemples de l'évolution de la différence de potentiel transcuticulaire lors d'une dilution de la solution de NaCl baignant la face externe de préparations de cuticule branchiale d'*Astacus leptodactylus*, *Carcinus maenas*, *Homarus gammarus* et *Maia squinado*. Chez les espèces conformes telles que *Homarus* et *Maia*, les résultats démontrent bien que la cuticule ne présente pratiquement aucun caractère de sélectivité.

L'importance de cette sélectivité apparaît plus clairement encore sur les échelles logarithmiques de la figure 2 où le rapport des perméabilités correspond à l'espace séparant les valeurs de perméabilité au Na^+ et au Cl^- . Trois niveaux de sélectivité se dégagent nettement : un niveau élevé (1/5 000), un niveau moyen (1/250) et un niveau bas (1/2 à 1/1) que l'on peut mettre respectivement en relation avec les trois niveaux de régulation mentionnés plus haut. Chez les espèces très régulatrices comme l'écrevisse et le crabe chinois, la sélectivité ionique s'est avérée dépendre du type de branchie et de leur localisation dans la chambre branchiale. Elle semble, en fait, systématiquement associée à de l'épithélium transporteur de sels présentant une activité NaKATPasique élevée. Cette association porte à croire que l'activité de pompage élevée d'ions Na^+ ou Cl^- par l'épithélium puisse être facilitée par le niveau élevé de perméabilité cuticulaire à l'une ou l'autre de ces espèces ioniques.

LE COMPLEXE ÉPITHÉLIO-CUTICULAIRE

D'après ce qui précède, il semble donc bien exister une certaine forme de complémentarité entre les propriétés de la cuticule et celles de l'épithélium dans le processus d'ionorégulation chez les crustacés. Par ailleurs, des expériences réalisées sur des préparations perfusées de branchies isolées ont permis de dégager une bonne corrélation entre les propriétés de sélectivité ionique de la cuticule et de la branchie entière, et ce, dans les trois groupes écophysiologiques examinés (Péqueux, Wanson & Lignon, résultats non publiés). Comment intégrer, dès lors, cuticule, épithélium et leurs propriétés respectives, dans un complexe fonctionnel ?

Fig. 1 : Diversité interspécifique de la sélectivité cuticulaire. Le degré de sélectivité est lié à l'amplitude de la différence de potentiel électrique transcuticulaire V_{ol} obtenue par dilution de la solution de NaCl externe. La concentration en NaCl du milieu de perfusion interne est de 250 mmol/l pour *Astacus leptodactylus* ; elle est de 500 mmol/l dans les autres cas (*Carcinus maenas* ; *Homarus gammarus* ; *Maia squinado*). E_{Na^+} et E_{Cl^-} : Potentiels d'équilibre des ions Na^+ et Cl^- , (F) : filament branchial ; (L) : lame branchiale.



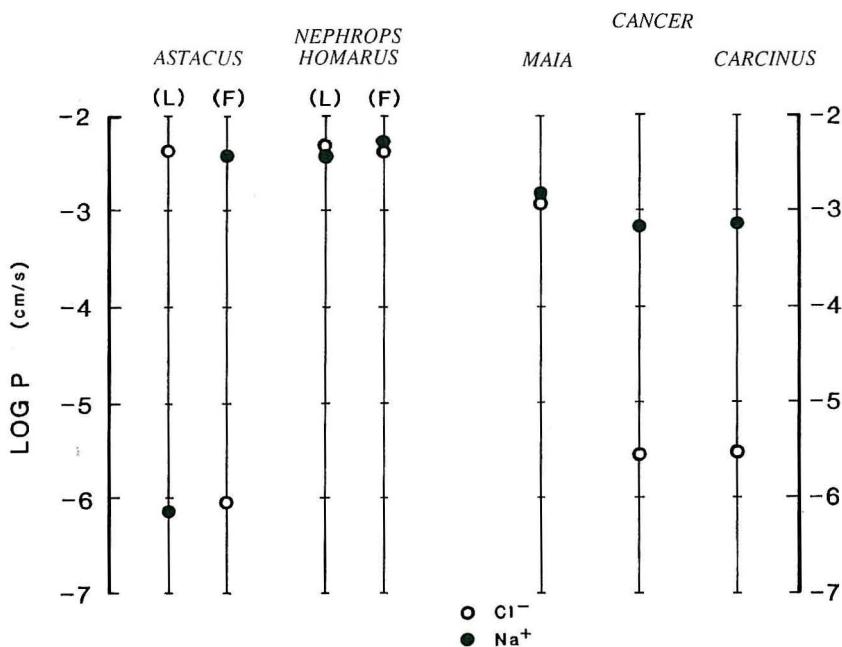


Fig. 2 : Valeurs comparées de la perméabilité cuticulaire branchiale aux ions Na^+ et Cl^- , chez quelques espèces de crustacés décapodes. La perméabilité (P), exprimée en cm/s , est rapportée sur une échelle logarithmique. On notera, à l'intérieur du groupe des Macroures (à gauche) comme à l'intérieur du groupe des Brachyours (à droite), des différences entre espèces régulatrices et espèces osmoconformes. (F : filament branchial ; L : lame branchiale).

Dans une branchie de crustacé, tout mouvement ionique sortant implique un déplacement en deux étapes : (1) de l'hémolymphé vers l'espace sous-cuticulaire à travers l'épithélium et/ou les jonctions paracellulaires, et (2) du compartiment sous-cuticulaire vers le milieu extérieur à travers la cuticule. Dans ce contexte, toute espèce ionique ayant atteint le compartiment sous-cuticulaire pourra aussi potentiellement retourner vers l'hémolymphé par les routes cellulaire et/ou paracellulaire avec, ou non, intervention de mécanismes de transport actif. Le mouvement net de la substance vers le milieu extérieur dépendra donc des intensités relatives de ces diverses composantes possibles, et donc tout particulièrement des niveaux de perméabilité de l'épithélium et de la cuticule ainsi que de l'activité des mécanismes de transport actif. Les diagrammes de la figure 3 illustrent trois situations qui peuvent rendre compte du pouvoir ionorégulateur des diverses catégories écophysiologiques considérées dans ce travail.

Situation I : Les mécanismes de transport actif sont particulièrement efficaces. Dans ce cas, l'espèce ionique traverse très difficilement, voire ne traverse pas la cuticule, et la bran-

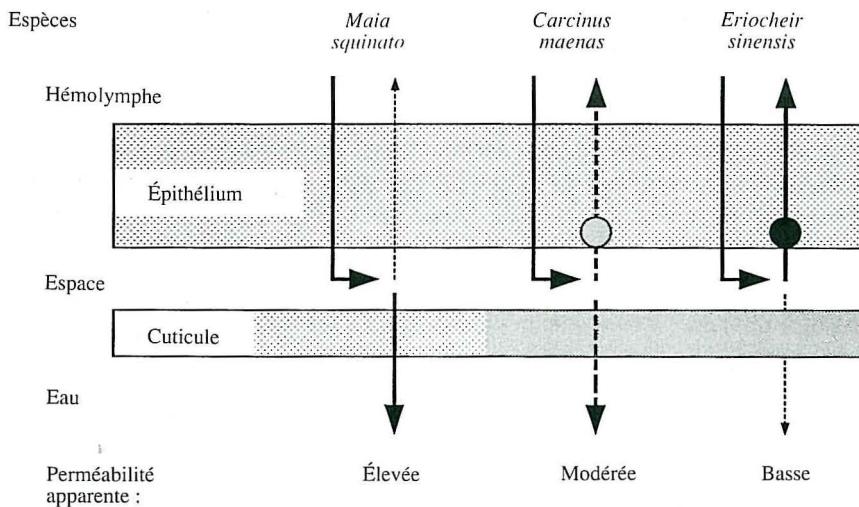


Fig. 3 : Représentation schématique de trois cas d'intégration épithélio-cuticulaire dans un complexe fonctionnel.
Pour de plus amples informations, se référer aux commentaires dans le texte.

chie semble "apparemment imperméable". Une telle situation pourrait rendre compte de l'indétectabilité du flux sortant d'ions Na^+ au niveau des branchies postérieures du crabe chinois *E. sinensis* (Péqueux & Gilles, 1981).

Situation II : Les mécanismes de transport actif sont peu performants. Dans ce cas, seule une partie des ions peut être recyclée et le reste atteint le milieu ambiant après passage au travers de la cuticule. La perméabilité de l'épithélium apparaît comme inférieure à ce qu'elle est réellement. Une telle situation pourrait exister chez le crabe vert *C. maenas* dont les branchies ne présentent *in vitro* un flux net entrant de Na^+ que lorsqu'elles sont perfusées et incubées dans le même milieu physiologique (Péqueux & Gilles, 1988) et sont le siège d'un flux net sortant lors d'une dilution du milieu extérieur (Péqueux & Wanson, résultats non publiés).

Situation III : Les mécanismes de transport actif sont peu performants, voire inefficaces. Il s'agit d'une situation comparable à celle existant chez les espèces strictement conformes, chez qui la cuticule n'est à considérer que comme une deuxième barrière de diffusion en série avec la barrière épithéliale.

CONCLUSIONS

De l'analyse qui précède, il ressort clairement que les propriétés de perméabilité des cuticules des crustacés décapodes et tout particulièrement de la cuticule branchiale peuvent

varier fortement d'une espèce à l'autre, en fonction de la localisation au sein de la cavité branchiale et en fonction de l'espèce ionique considérée. Il apparaît donc clairement que la cuticule doit être largement impliquée dans les mécanismes d'ionorégulation chez ces espèces animales.

Dans cette diversité, une certaine unité est cependant maintenue lorsqu'on se réfère aux capacités iono/osmorégulatrices de l'animal étudié. Les cuticules des espèces conformes sténohalines ne présentent pas de sélectivité ionique marquée et sont très nettement plus perméables que celles des espèces régulatrices. Ces particularités intéressent toutes les parties du corps.

Ceci laisse donc supposer que l'espace sous-cuticulaire, particulièrement développé chez les espèces acclimatées à des milieux dilués, est un compartiment physiologique important dont la signification et le rôle restent encore à définir. Il pourrait notamment être impliqué dans des processus de recyclage d'ions. Les résultats analysés dans ce qui précède suggèrent qu'au niveau branchial, les besoins conflictuels d'une basse perméabilité favorable à une réduction des fuites ioniques et d'une route pour la récupération d'ions contre gradient semblent rencontrés par la présence de sites de passage sélectifs aux ions dans la cuticule. Il ne s'agit toutefois pas d'un état de "tout ou rien" mais de propriétés modulées en fonction de la salinité de l'environnement et des caractéristiques de l'épithélium sous-jacent. Néanmoins, la cuticule branchiale peut rendre compte, dans une large mesure, de la barrière opposée aux fuites diffusionnelles d'ions. Si la carapace apparaît comme peu perméable et qu'on peut donc considérer que l'essentiel des échanges ioniques prend place au niveau branchial, elle est néanmoins perméable contrairement à ce que l'on croit habituellement et, chez l'écrevisse par exemple, elle peut rendre compte d'une perte de NaCl aussi importante que les pertes encourues au niveau urinaire.

En conclusion, le rôle de la cuticule des crustacés décapodes pourrait être triple. En fonction de son degré de perméabilité, elle pourrait réduire les effets de variations brusques de la composition du milieu ambiant sur le compartiment sous-cuticulaire. Par ailleurs, la cuticule pourrait réduire les gradients osmotiques importants auxquels serait soumise en son absence la membrane apicale de l'épithélium. Enfin, la permselectivité cuticulaire en fonction de sa localisation branchiale pourrait correspondre à des voies de transport spécifique de l'espèce ionique correspondante par l'épithélium sous-jacent.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur gratitude à M. le Prof. P. Dejours pour ses encouragements et ses suggestions, et à M. le Prof. P. Lasserre pour les facilités d'hébergement qu'il leur a accordées à la Station Biologique de Roscoff. M.E. Corbethau, A. Zaegel, J.P. Gendner, S. Liess, Mlle C. Plumeré et M.C. Chaban sont également remerciés pour leurs aides diverses.

Ce travail a bénéficié de subides, bourses et crédits aux chercheurs du Fonds National de la Recherche Scientifique accordés à A.P.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- GROSS, W.J., 1957. An analysis of response to osmotic stress in selected decapod Crustacea. *Biol. Bull.*, 112 : 43-62.
- KROGH, A., 1938. The active absorption of ions in some fresh water animals. *Z. Vergl. Physiol.* 25 : 335-350.
- KROGH, A., 1939. Osmotic regulation in Aquatic Animals. Cambridge University Press, New York, *Dover Publ.* 1965.
- LIGNON, J.M., A. PÉQUEUX & J.P. GENDNER, 1988. Perméabilité cuticulaire branchiale aux ions chez les Crustacés Décapodes et salinité du milieu environnant. *Océanis*, 14 : 487-503.
- LOCKWOOD, A.P.M., 1977. Transport and osmoregulation in Crustacea ; in Gupta BL, Moreton RB, Oschman JL, Wall BJ (eds) : *Transport of ions and water in animals*. New York, Academic Press, 673-707.
- MANTEL, L.H. & L.L. FARMER, 1983. Osmotic and ionic regulation ; in Mantel LH (ed) : *The Biology of Crustacea, Internal Anatomy and Physiological Regulation*. New York, Academic Press, vol. 5 : 54-162.
- PÉQUEUX, A. & R. GILLES, 1981. Na^+ fluxes across isolated perfused gills of the Chinese crab *Eriocheir sinensis*. *J. Exp. Biol.*, 92 : 173-186.
- PÉQUEUX, A & R. GILLES, 1988. NaCl transport in gills and related structures. Part I : Invertebrates. In: Greger R. (ed) : *Advances in Comparative and Environmental Physiology*. Berlin, Springer, vol. 1 : 1-73.
- SMITH, D.S. & J.R. LINTON, 1971. Potentiometric evidence for the active transport of sodium and chloride across excised gills of *Callinectes sapidus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 39A : 367-378.