

(Manuscrit reçu le 30 juillet 1986)

ASPECTS ULTRASTRUCTURAUX ET FONCTIONNELS DE DIVERSES RÉGIONS CUTICULAIRES NON MINÉRALISÉES D'UN CRUSTACÉ DÉCAPODE, *CARCINUS MAENAS*

par

PHILIPPE COMPÈRE (*) et GERHARD GOFFINET

Laboratoire de Morphologie animale, Université de Liège
Institut de Zoologie, 22, quai Van Beneden, B-4020 Liège (Belgique)

RÉSUMÉ

L'ultrastructure de diverses régions cuticulaires non minéralisées (membranes articulaires, cuticule des lamelles branchiales et cuticule du feuillet externe de la lame branchiostège) a été examiné chez le crabe *Carcinus maenas*. Ces régions diffèrent quant aux contraintes mécaniques auxquelles elles sont soumises et/ou aux processus physiologiques dans lesquels elles sont impliquées. Les observations montrent que, outre l'organisation hélicoïdale des microfibrilles chitinoprotéiques, trois structures cuticulaires sont directement impliquées dans la physiologie du tégument : l'épicuticule externe, l'épicuticule interne et le système canaliculaire. (1) De manière générale, l'épicuticule externe montre une organisation complexe. Elle est formée de cinq strates, sauf au niveau des zones cuticulaires perméables à l'eau et aux ions (cuticules des branchies et du feuillet interne de la lame branchiostège) où elle ne compte jamais plus de deux strates. (2) Les racines épicuticulaires atteignent un développement maximum au niveau des cuticules souples soumises à des déformations répétées (membranes articulaires). Elles interviennent non seulement dans l'ancrage de l'épicuticule, notamment au niveau des sclérites, mais elles participeraient également à la cohésion des lamelles de la procuticule. Les racines épicuticulaires sont toujours absentes des cuticules à faible résistance mécanique. (3) Au niveau des cuticules perméables, les canalicules épicuticulaires forment un important réseau sous-épicuticulaire en relation directe avec les canaux de la procuticule. Ceci suggère qu'ils sont directement impliqués dans des processus d'échanges. Les canaux procuticulaires, par contre, sont considérablement plus nombreux dans les cuticules minéralisées que dans les cuticules non minéralisées. Cette observation confirme l'hypothèse généralement admise selon laquelle ils interviendraient dans le transport de matériaux (ions calciques, anhydrase carbonique) impliqués dans le processus de minéralisation de la carapace après l'exuviation.

Mots clés : Cuticule, Décapode, *Carcinus maenas*.

Ultrastructural and functional aspects of various non-mineralized cuticles
in a decapod Crustacean, *Carcinus maenas*

SUMMARY

The fine structure of various unmineralized regions of the integument of *Carcinus maenas* (articular membranes, branchial cuticle and inner branchiostegite cuticle), was examined. These regions are submitted to variable mechanical stresses and/or involved in different physiological processes. Our observations show that, in addition to the

(*) Aspirant au Fonds National de la Recherche Scientifique (F.N.R.S.).

helicoidal cholesteric arrangement of the chitin-protein microfibrils, three main cuticular structures are closely concerned with the integument physiology : the outer epicuticle, the inner epicuticle and the pore canal system. (1) In articular membranes, as in mineralized cuticles, the outer epicuticle appears as a complicated organization consisting in five thin leaflets. In ion and water permeable cuticles (branchial and inner branchios-tegal cuticles), this structure is substantially simplified and never exhibits more than two leaflets. (2) The epicuticular roots show maximal development in unmineralized cuticles submitted to repeated stresses (articular membranes). In addition to their role in epicuticle anchorage as observed in mineralized cuticles, they probably contribute to the cohesion between procuticular laminae. From the same point of view, epicuticular roots are always lacking in low-tensile cuticles. (3) In permeable cuticles, the epicuticular canals give rise to a subepicuticular complex network connected to procuticular canals, which suggests that it is closely concerned in exchange processes. In contrast, procuticular pore canals are substantially more numerous in mineralized cuticles than in non-mineralized cuticles. This supports the common opinion that they transport materials involved after ecdysis in the mineralization process of the carapace (calcium ions, carbonic anhydrase).

Key-words : Cuticle, Decapods, *Carcinus maenas*.

INTRODUCTION

La cuticule des Crustacés, comme celle des Arthropodes en général, constitue une enveloppe continue limitant des régions tégumentaires très diverses quant à leurs fonctions et leurs propriétés physico-chimiques (perméabilité, résistance aux déformations). Les sclérites sont des zones cuticulaires rigides et peu perméables, fortement minéralisées (85 % du poids sec de la carapace de *Carcinus maenas*) (WELINDER, 1974) et partiellement stabilisés par tannage quinonique (DENNELL, 1947; KRISHNAN, 1951; CHOCKALINGHAM, 1974; VACCA et FINGERMAN, 1975a, b; NEVILLE, 1975). Ils sont généralement unis par des membranes articulaires, souples, non minéralisées et résistantes à des déformations répétées. Il existe également des zones souples de faible résistance mécanique, comme la cuticule du feuillet interne de la lame branchiostège et celle des lamelles branchiales. Celles-ci seraient aussi le siège d'échanges respiratoires, ioniques et hydriques.

L'organisation ultrastructurale de la cuticule des sclérites est relativement bien connue. Parmi les nombreux travaux qui lui sont consacrés, nous citerons ceux de DRACH (1939), TRAVIS et FRIBERG (1963), KÜMMEL *et al.* (1970), BOULIGAND (1971), GREEN et NEFF (1972), DENNELL (1973, 1974, 1976, 1978), DALINGWATER (1975a, b), HEGDAHL *et al.* (1977a, b, c), GIRAUD-GUILLE (1984a, b et c), GOFFINET et COMPÈRE (1986). Classiquement, la cuticule est subdivisée en trois couches : l'épicuticule externe, l'épicuticule interne et la procuticule. L'épicuticule externe, mince couche superficielle, comprend généralement cinq strates bien distinctes dont une, d'aspect trilamellaire et en contact direct avec l'épicuticule interne, serait l'homologue de la cuticuline des Insectes. L'épicuticule interne est formée d'une matrice dense aux électrons, finement striée verticalement et d'aspect fibreux. Elle est traversée par un grand nombre de canalicules de 25 nm de diamètre, les canalicules épicuticulaires. A l'exception de ces derniers, l'épicuticule serait dépourvue de CaCO_3 (HEGDAHL, 1977c). La procuticule est subdivisée en trois couches : la couche pigmentaire, la couche principale et la couche membraneuse (selon la terminologie de DRACH, 1939). GIRAUD-GUILLE (1984a) a montré l'existence d'une relation étroite entre l'organisation microfibrillaire de ces trois couches et la distribution du constituant minéral. La minéralisation de la couche pigmentaire s'effectue après la mise en place des microfibrilles chitinoprotéiques qui s'organisent en un système réticulé. Dans la couche principale, les deux phénomènes sont pratiquement simultanés. Les micro-

fibrilles s'y associent en faisceaux ou macrofibres. Contrairement aux deux couches précédentes, la couche membraneuse n'est pas minéralisée. L'organisation microfibrillaire y est dense et compacte, les espaces interfibrillaires réduits ou inexistant.

Au cours de la période de mue, on sait que de nombreuses villosités des cellules ectodermiques pénètrent la procuticule nouvellement formée (KÜMMEL *et al.*, 1970; GREEN et NEFF, 1972). D'autre part, COMPÈRE et GOFFINET (1987b) ont récemment démontré que ces prolongements cellulaires atteignent la base de l'épicuticule interne lors de la période préecdysiale et qu'ils régressent ensuite durant la période post-ecdysiale jusqu'à disparition totale en intermue. Ils laissent ainsi en place un important système canaliculaire ramifié qui demeure en communication avec les canalicules épicuticulaires. La paroi de ces canaux est consolidée par d'abondantes fibres verticales. Ces dernières, fermement liées aux fibres chitino protéiques horizontales, assureraient la cohésion des lamelles cuticulaires entre elles (MUTVEI, 1974; GUBB, 1975; COMPÈRE et GOFFINET (1987a).

A l'inverse des sclérites, l'ultrastructure des diverses régions cuticulaires non minéralisées des Crustacés décapodes est mal connue. Le présent travail tente d'établir une relation directe entre certaines caractéristiques ultrastructurales de ces différentes régions cuticulaires et leurs propriétés mécaniques et physico-chimiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les crabes *Carcinus maenas* de 3 à 4 cm de long ont été récoltés à la Station Marine de Wimereux (France). Les stades du cycle d'intermue ont été déterminés par la méthode de DRACH et TCHERNIGOVITZ (1967). Les fragments tégumentaires destinés à l'observation en microscopie électronique à transmission ont été prélevés respectivement au niveau de la lame branchiostège, au niveau des branchies antérieures (2^e paire) et postérieures (5^e paire) ainsi qu'au niveau de la membrane articulaire rel ant le carpopodite et le méropodite des pinces.

Une première fixation des fragments est réalisée par immersion directe pendant 1 à 3 h à 20°C dans une solution de glutaraldéhyde 2,5 % tamponnée à pH 7,4 par du cacodylate de sodium 0,1 M. Les échantillons sont alors rincés dans le tampon cacodylate. L'osmolarité de ces solutions est ajustée à 520 mOsm à l'aide de sucrose. Les fragments de lame branchiostège sont décalcifiés dans une solution d'EDTA 0,2 M à pH 8,0 à 4°C durant 68 h avant de subir une seconde fixation de 2 h dans la solution de glutaraldéhyde et un rinçage dans le tampon cacodylate. Tous les échantillons sont postfixés au tétrahydroxyde d'osmium 1 % dans le tampon cacodylate 0,1 M pH 7,4 à 4°C durant 1 à 3 h. Après lavage à l'eau distillée, ils sont déshydratés dans une série de solutions d'éthanol de concentration croissante et enchâssés dans une résine synthétique (Epon 812). Les coupes fines réalisées au moyen d'un couteau de diamant sur un ultramicrotome LKB sont déposées sur grilles de cuivre, contrastées à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) et examinées à l'aide d'un microscope électronique à transmission de type Siemens 101 sous une tension d'accélération de 80 kV.

RÉSULTATS

A. La cuticule des membranes articulaires

La cuticule des membranes articulaires examinées possède une épaisseur légèrement inférieure (150-200 µm) à celle des sclérites. En coupe perpendiculaire à l'ecto-

erme, sa surface apparaît régulièrement plissée, formée de « dômes » convexes alternant avec des creux en forme de V (Pl. I, 1). L'épaisseur de l'épicuticule y est de 1 μm . L'épicuticule externe dont l'organisation est comparable à celle des sclérites (COMPÈRE et GOFFINET, 1987a) apparaît pluristratifiée (Pl. I, 2). Son épaisseur est de 220 nm environ. Un épais revêtement fibreux ou « surface coat » de 180 nm d'épaisseur constitue la limite extérieure. On y distingue le plus souvent deux régions, l'une externe, d'aspect fibreux assez lâche de 140 nm d'épaisseur; l'autre interne plus dense, de 40 nm d'épaisseur. Ce revêtement fibreux repose directement sur une mince bande claire aux électrons (10 nm), parfois peu visible. Vient ensuite une bande plus épaisse (30 nm), de densité électronique moyennement élevée, surmontant une seconde bande claire aux électrons de 10 nm d'épaisseur. Enfin, une strate de 10 nm d'épaisseur et d'apparence trilamellaire (deux minces bandes de forte densité électronique séparées par une zone claire aux électrons) constitue la limite inférieure de l'épicuticule externe. Cette strate, continue et directement en contact avec l'épicuticule interne, a été dénommée cuticuline, par analogie avec celle décrite par LOCKE (1966, 1969) et DELACHAMBRE (1970) chez les Insectes.

L'épicuticule interne (0,7 μm d'épaisseur environ), est formée d'une matrice dense aux électrons et finement granulaire (Pl. I, 2 et Pl. II, 3). Elle est traversée par de nombreux canalicules épicuticulaires souvent bifurqués dont le diamètre de 25 nm est identique à celui déterminé au niveau des sclérites. Comme chez ces derniers, ils s'interrompent au niveau de la cuticuline. La face inférieure de l'épicuticule interne est garnie d'un grand nombre de larges prolongements côniques, les racines épicuticulaires. Celles-ci pénètrent profondément la procuticule jusqu'au tiers supérieur de la cuticule préecdysiale (Pl. I, 1, 2 et Pl. II, 3). Elles atteignent un développement maximal sous les « dômes » formés par des replis de l'épicuticule et des premières lamelles de la procuticule. A ce niveau, elles s'anastomosent fréquemment en un réseau de trabécules horizontaux parallèles aux fibres procuticulaires. Juste sous l'épicuticule interne, entre les racines épicuticulaires, on distingue des tubules horizontaux dont le diamètre de 25 nm en section transversale, est identique à celui des canalicules épicuticulaires.

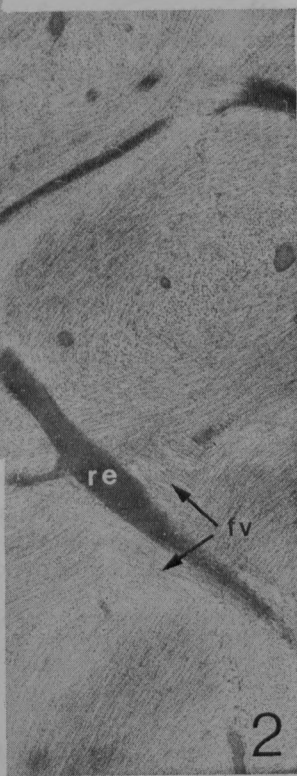
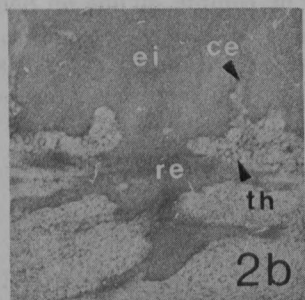
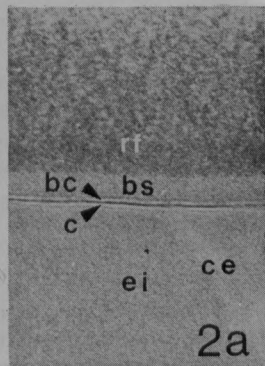
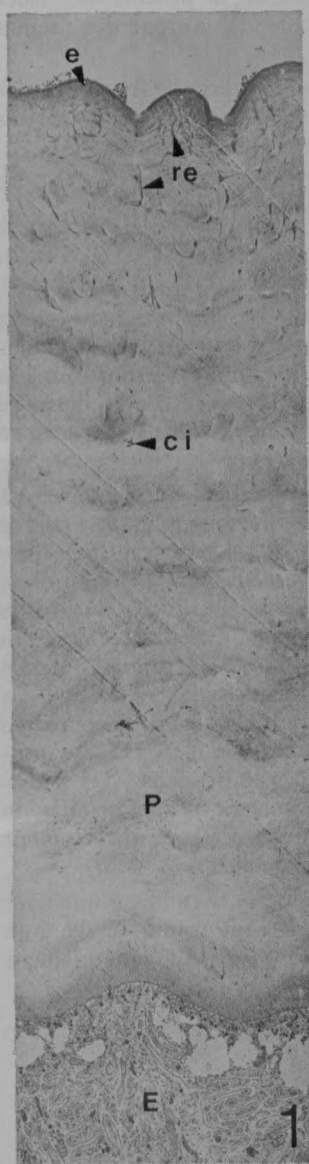
La procuticule présente une organisation microfibrillaire uniformément dense et compacte semblable à celle de la couche membraneuse des sclérites. On y distingue difficilement une région préecdysiale d'une région postecdysiale. A côté des microfibrilles chitinoprotéiques horizontales disposées suivant le modèle hélicoïdal de BOULIGAND (1965), on distingue des fibres à orientation verticale en association

PLANCHE I

Carcinus maenas. — (1) Coupe transversale de la membrane articulaire au stade E (exuviation). $\times 2.800$. (2) Membrane articulaire; Épicuticule (stade C4 ou Intermue). $\times 33.000$; (a) détail de l'épicuticule externe. $\times 110.000$; (b) détail de la base de l'épicuticule interne. $\times 48.000$.

bc : bande claire aux électrons; bs : bande dense aux électrons; c : couche trilamellaire cuticuline; ce : canalicules épicuticulaires; ci : canaux intracuticulaires; E : ectoderme; e : épicuticule; ee : épicuticule externe; ei : épicuticule interne; fv : fibres verticales associées aux racines épicuticulaires; P : procuticule; re : racines épicuticulaires; rf : recouvrement fibreux de l'épicuticule externe; th : tubules horizontaux sous-épicuticulaires.

PLANCHE I



avec les racines épicuticulaires (Pl. I, 2 et Pl. II, 5). Elles présentent la même densité électronique que les fibres horizontales. En coupe perpendiculaire à l'ectoderme (Pl. II, 5), leur disposition symétrique et répétitive avec le motif lamellaire rappelle fortement celle des fibres verticales associées aux canaux de la procuticule. Elles adoptent donc une disposition également hélicoïdale et torsadée autour des racines épicuticulaires.

Les canaux intracuticulaires sont présents mais peu nombreux. Au cours des stades précédysiaux jusqu'aux stades postecdysiaux avancés (stades D2 à C3), ils contiennent du matériel cytoplasmique limité par une membrane plasmique (Pl. II, 4).

B. Cuticule des lamelles branchiales

La cuticule des lamelles branchiales est très mince (0,8 à 1,5 μm) (Pl. III, 8 et 9). L'épaisseur de l'épicuticule n'étant que de 0,1 μm environ (Pl. III, 10).

L'épicuticule externe (Pl. III, 10) (80 nm d'épaisseur) ne comprend que deux strates : une bande claire aux électrons de 10 nm d'épaisseur, en contact avec l'épicuticule interne, et un revêtement fibreux superficiel de 70 nm d'épaisseur dont la partie externe apparaît souvent en touffes régulièrement espacées. Cette dernière organisation est particulièrement évidente sur coupes tangentielles à la surface cuticulaire (Pl. III, 11).

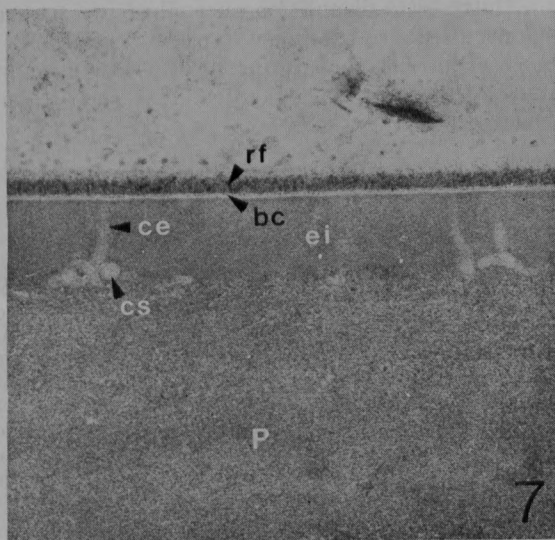
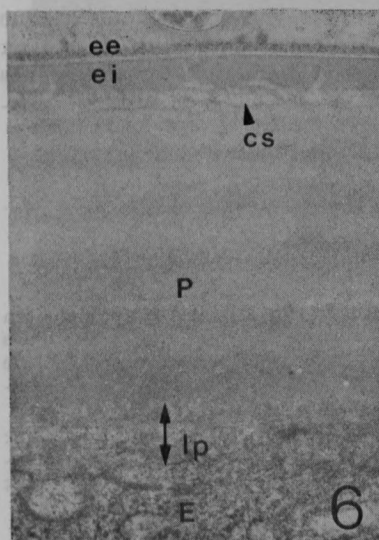
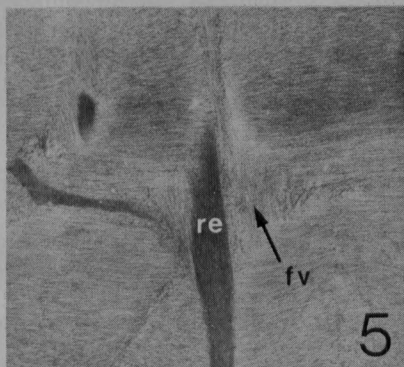
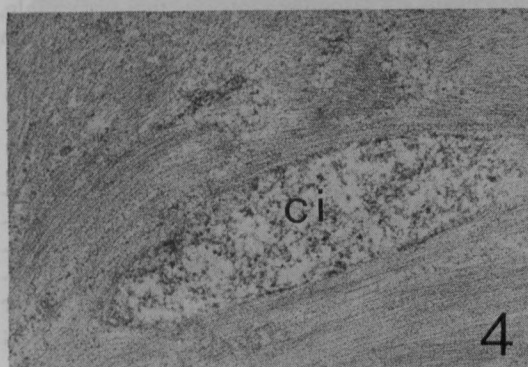
L'épicuticule interne (Pl. III, 10), comme celle de la membrane articulaire, est formée d'une matrice d'aspect homogène et de forte densité électronique. Par contre son épaisseur est très réduite et ne dépasse que rarement 50 nm. Sa face inférieure est entièrement dépourvue de racines. Les canalicules épicuticulaires (25 nm de diamètre) y sont nombreux et s'interrompent au niveau de l'épicuticule externe (Pl. III, 9 et 10). Par leur extrémité basale, ils communiquent avec des canalicules horizontaux situés à proximité de la limite inférieure de l'épicuticule interne (Pl. III, 10). Leur diamètre est identique à celui des canalicules épicuticulaires. Ils sont organisés en un véritable réseau sous-épicuticulaire qu'il est aisé de reconnaître sur coupes tangentielles ou obliques à la surface cuticulaire (Pl. III, 11). La procuticule (Pl. III, 8 et 9) présente une organisation microfibrillaire dense. On y distingue cependant deux zones : une zone distale (1 μm) formée d'une dizaine de lamelles environ et une zone proximale (0,15 μm) plus lâche. Celle-ci, directement en contact avec l'ectoderme ne compte qu'une ou deux lamelles.

Le système des canaux procuticulaires est peu développé et se réduit à quelques canaux verticaux (Pl. III, 9) et horizontaux (Pl. III, 8). En intermue, ces canaux apparaissent toujours dépourvus du matériel cytoplasmique et sont généralement

PLANCHE II

Carcinus maenas. — (3) Membrane articulaire (stade C4); Épicuticule. $\times 20.000$. 4) Membrane articulaire (stade E). $\times 30.000$. (5) Membrane articulaire (stade E). $\times 20.000$. (6) Cuticule du feuillet interne de la lame branchiostège. Vue générale : $\times 34.000$. (7) Cuticule du feuillet interne de la lame branchiostège; détail de l'épicuticule. $\times 70.000$.

be : bande claire aux électrons; ce : canalicules épicuticulaires; cs : canalicules horizontaux sous-épicuticulaires; E : ectoderme; ee : épicuticule externe; ei : épicuticule interne; fv : fibres verticales; lp : lamelle procuticulaire lâche directement en contact avec l'ectoderme; P : procuticule; re : racines épicuticulaires; rf : recouvrement fibreux de l'épicuticule externe.



comblés par un matériel d'apparence granulaire. Ils contiennent le plus souvent des structures en forme de « bâtonnets », clairs aux électrons, dont la nature et l'origine nous sont inconnues. Pl. III, 9 et 11 montrent que les canaux verticaux se prolongent jusqu'à la base de l'épicuticule interne où ils entrent en communication avec les canalicules épicuticulaires via le réseau de canalicules horizontaux sous-épicuticulaires.

C. La cuticule du feuillet interne de la lame branchiostège

L'organisation de la cuticule du feuillet interne de la lame branchiostège est fort comparable à celle de la cuticule des lamelles branchiales. Elle est mince, de 1,6 à 2 μm d'épaisseur, et comprend l'épicuticule (0,2 μm) et la procuticule (1,5 à 1,9 μm). Le revêtement fibreux de l'épicuticule externe est toutefois plus important et plus dense. L'épicuticule interne est également très réduite (0,5 μm) et dépourvue de racines. Elle est traversée par de nombreux canalicules épicuticulaires de 25 nm de diamètre communiquant avec un vaste réseau de canalicules horizontaux sous-épicuticulaires (Pl. II, 6 et 7).

La procuticule montre une organisation microfibrillaire dense et compacte caractéristique des cuticules non minéralisées (Pl. II, 6). A la différence de celle des lamelles branchiales, elle ne compte que cinq à six lamelles, dont la plus proximale, en contact direct avec l'ectoderme, apparaît mal définie, plus lâche et moins bien organisée. Le système des canaux procuticulaires y est également très réduit.

DISCUSSION

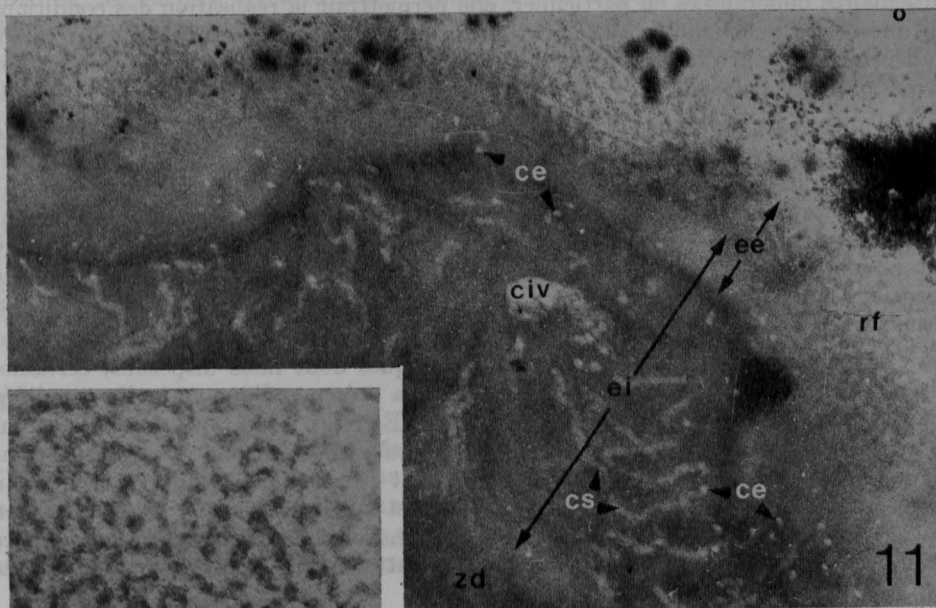
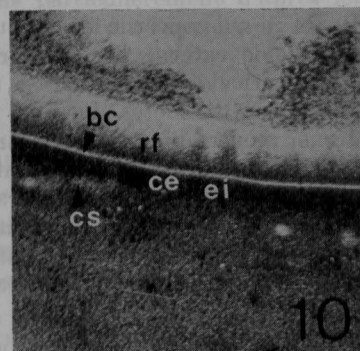
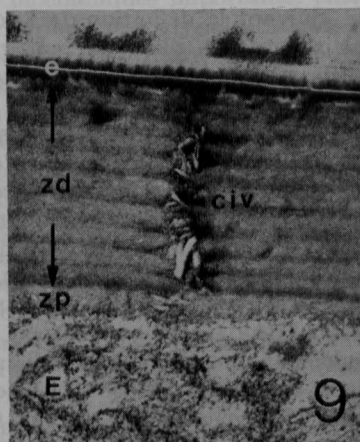
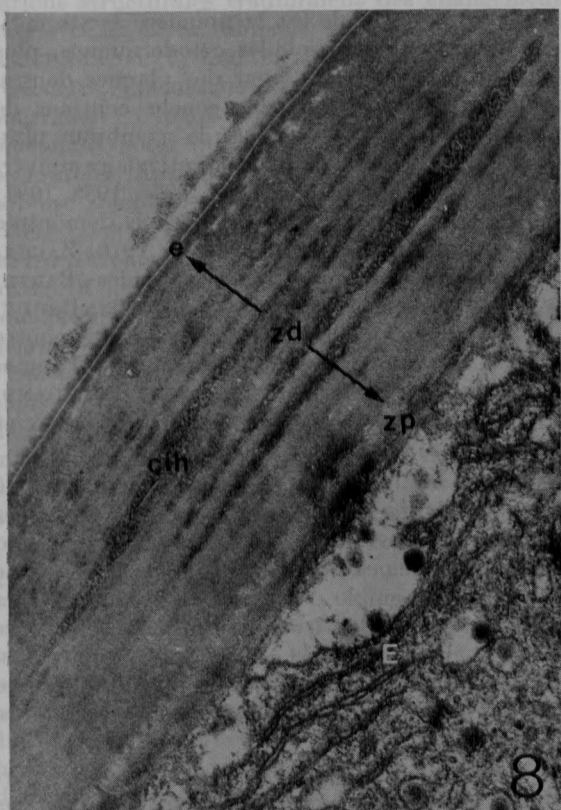
L'organisation hélicoïdale des microfibrilles chitinoprotéiques en une pseudomorphose cholestérique commune à la plupart des cuticules d'Arthropodes (BOULIGAND, 1965), confère à ces dernières une apparence lamellaire ainsi qu'une résistance mécanique comparable à celle des contre-plaqués (chez les Crustacés, BOULIGAND, 1971; GREEN et NEFF, 1972; GUBB, 1975; NEVILLE, 1975, 1984; LIVOLANT *et al.*, 1978; chez les Insectes : BOULIGAND, 1972; NEVILLE et LUKE, 1969a et b; chez les Arachnides : BARTH, 1970).

Outre cette disposition microfibrillaire également présente au niveau de chaque région cuticulaire examinée dans ce travail, trois éléments structuraux principaux sont responsables de certaines propriétés du tégument et sont intimement impliqués dans sa physiologie : l'épicuticule externe, l'épicuticule interne et le système canaliculaire.

PLANCHE III

Carcinus maenas. — (8) Coupe transversale de la cuticule des lamelles branchiales en intermue. $\times 33.000$. (9) Coupe transversale de la cuticule des lamelles branchiales en intermue. $\times 40.000$. (20) Cuticule branchiale; Épicuticule. $\times 100.000$. (11) Cuticule branchiale; Épicuticule en coupe tangentielle. $\times 53.000$; encadré : structure du recouvrement fibreux de l'épicuticule externe. $\times 100.000$.

bc : bande claire; ce : sections transversales de canalicules épicuticulaires; cih : canaux intracuticulaires horizontaux; civ : canal intracuticulaire vertical; cs : canalicules horizontaux sous-épicuticulaires; ei : épicuticule interne; rf : recouvrement fibreux; zd : zone distale de la procuticule; zp : zone proximale de la procuticule.



1. L'épicuticule externe

Suivant la définition de LOCKE (1966), la cuticule est la première strate cuticulaire mise en place par « fragments » à l'apex des cellules ectodermiques, plus précisément au niveau de courtes microvillosités coiffées par des plaques denses. Après fusion des fragments, on assiste à la formation d'une couche continue de 20 nm d'épaisseur environ, et d'aspect trilamellaire, semblable à la membrane plasmique. On admet généralement que la cuticuline est une strate cuticulaire universellement présente chez les Arthropodes (ZACHARUK, 1976; LOCKE, 1976, 1983, 1984; FILSHIE, 1982; GNATZY et ROMER, 1984). Sa présence fut maintes fois démontrée chez les Insectes (LOCKE, 1966, 1969; DELACHAMBRE, 1970; FILSHIE, 1970; ZACHARUK, 1972; HENDRICKS et HADLEY, 1983) ainsi que chez des Arachnides (BARTH, 1969, araignées; HADLEY et FILSHIE, 1979, scorpions; WHARTON *et al.*, 1968; BRODY, 1970; FILSHIE, 1976, Acariens). Chez les Crustacés, l'épicuticule externe montre également une strate trilamellaire que d'aucuns considèrent comme étant l'homologue de la cuticule des Insectes (GHARAZOGLU-VAN GINNEKEN et BOULIGAND, 1973, 1975; GHARAZOGLU-VAN GINNEKEN, 1976; KÜMMEL *et al.*, 1970; GREEN et NEFF, 1972; CHRISTIANSEN et COSTLOW 1982).

En ce qui concerne les cuticules non minéralisées nos résultats démontrent que l'épicuticule externe des membranes articulaires de *C. maenas*, comme celle des régions cuticulaires minéralisées (COMPÈRE et GOFFINET, 1987a) est formée de cinq strates bien distinctes. La plus interne, directement en contact avec l'épicuticule interne, montre une structure tripartite. Elle semble donc bien correspondre à la cuticuline des Insectes. Par contre au niveau des cuticules perméables (branchies et feuillet interne de la lame branchiostège), l'épicuticule externe est considérablement simplifiée et ne compte jamais plus de deux strates. La « cuticuline » présente au niveau des sclérites ainsi qu'une large strate dense aux électrons sous-jacente au revêtement fibreux de surface font défaut.

Ces observations suggèrent que certaines strates de l'épicuticule externe participent activement à « l'imperméabilisation » du tégument. Au niveau des régions cuticulaires minéralisées en particulier, elle permettrait la réalisation des conditions de microenvironnement telles la concentration ionique et le pH (WILBUR, 1980), indispensables pour l'initiation et la poursuite du processus de minéralisation durant la période postecdysiale.

D'autre part l'absence (apparente) d'une structure tripartite homologue de la cuticuline, au niveau de l'épicuticule externe des zones perméables soulève la question de savoir si la cuticuline est réellement absente de cette structure ou si une telle organisation simplifiée est le résultat de modifications secondaires. Il est évident que seule une étude approfondie de la mise en place de l'épicuticule externe au niveau de diverses régions cuticulaires peut résoudre ce problème. Par la même occasion, la question de l'homologie des strates épicuticulaires des Insectes et des Crustacés pourra être tranchée de manière définitive.

En dépit du peu de données bibliographiques dont nous disposons, certaines observations plaident néanmoins en faveur de la présence d'une cuticuline modifiée au niveau des systèmes cuticulaires perméables. En effet, selon LOCKE (1966) durant la période préecdysiale, la cuticuline de *Calpodes ethlius* subit des modifications structurales importantes. Elle passe notamment par une phase dite « poreuse » au cours de laquelle elle serait très perméable. C'est à son niveau que se réaliserait en outre la réabsorption de substances dissoutes dans le liquide ecdysial en provenance de l'ancienne cuticule. Après l'exuviation, la cuticuline deviendrait une membrane

hydrophobe, constituant le support des lipides cuticulaires de surface. Ces modifications structurales traduiraient des changements biochimiques importants, entre autres celui dû au tannage quinonique en fin de période préecdysiale (LOCKE et KRISHNAN, 1971; LOCKE, 1984). Par conséquent, les différences structurales observées entre l'épicuticule externe des sclérites et celle des zones cuticulaires perméables pourraient s'expliquer par l'absence de tannage au niveau de ces dernières. Il faut cependant noter qu'une cuticuline a été décrite au niveau de certaines cuticules perméables. Ainsi, la cuticule de trachéole de *Calpodes ethlius* montre une structure poreuse semblable à celle de la cuticule des sclérites avant l'exuviation (LOCKE, 1966; LOCKE 1984). Au niveau de cellules à chlorures des trachéobranchies des larves d'Éphémères, la cuticuline adopte également une structure poreuse suivant un motif hexagonal très particulier et « calqué » sur celui de l'épicuticule interne sous-jacente (FILSHIE et CAMPBELL, 1984). Chez les Crustacés, la cuticuline a été décrite sous une apparence trilamellaire au niveau des branchies de la crevette *Penaeus aztecus* (TALBOT *et al.* 1972). Au niveau du feuillet interne de la lame branchiostège de l'écrevisse *Panulirus argus*, FILSHIE et SMITH (1980) ont également décrit une strate dense aux électrons qu'ils ont appelée « cuticuline ». D'après leurs micrographies, très semblables aux nôtres, et plus particulièrement d'après leur figure 2, nous pensons que cette strate correspond en réalité à l'épicuticule interne à laquelle ils ne font par ailleurs pas allusion.

2. L'épicuticule interne

L'épicuticule interne des sclérites est formée d'une matrice dense aux électrons où des éléments fibreux sont disposés verticalement. Elle se caractérise en outre par la présence de racines épicuticulaires assurant l'ancrage de l'épicuticule à la procuticule (GREEN et NEFF, 1972; GIRAUD-GUILLE, 1984a; COMPÈRE et GOFFINET, 1987a). Au niveau des cuticules non minéralisées par contre, la matrice est dense et homogène, comme chez les Insectes (LOCKE, 1969; FILSHIE, 1970, 1982). Au niveau des cuticules soumises à des déformations répétées telles que les membranes articulaires, les racines épicuticulaires sont très développées. Profondément enfouies dans la procuticule, elles interviendraient non seulement dans l'ancrage de l'épicuticule mais également dans la cohésion des lamelles au moyen de fibres verticales qui leur sont associées. Elles se substitueraient en quelque sorte aux fibres verticales associées aux canaux intracuticulaires dont le nombre est ici réduit. Dans le même ordre d'idées, les racines épicuticulaires sont absentes des zones cuticulaires souples qui ne sont soumises à aucune contrainte mécanique particulière, comme c'est le cas du feuillet interne de la lame branchiostège et de la cuticule des branchies. Chez les Insectes, d'importantes racines épicuticulaires ont également été décrites au niveau de quelques structures tégumentaires particulières : c'est le cas notamment de la membrane intersegmentaire d'un coléoptère Elatéride (ZACHARUK, 1972) et de la cuticule oesophagienne du gésier du Coléoptère Ptérostichidé, *Abax ater* (JASPAR-VERSALI, 1985).

3. Le système canaliculaire

L'organisation du système canaliculaire ramifié des cuticules minéralisées des Crustacés décapodes est bien connue grâce aux travaux de KÜMMEL *et al.* (1970) chez *Orconectes limosus*, de GREEN et NEFF (1972) chez *Uca pugnator*, de MUTVEI (1974) chez *Homarus gammarus* et *Carcinus maenas*, de HEGDAHL *et al.* (1977a, b, c) chez *Cancer pagurus*, et plus récemment, de COMPÈRE et GOFFINET (1987b) chez

Carcinus maenas. Durant la période précédysiale, les canalicules participeraient à la résorption des constituants de l'ancienne cuticule. Après l'exuviation, ils constitueraient des voies d'accès vers les strates supérieures de la cuticule pour les matériaux intervenant dans le durcissement de la cuticule (précurseurs du tannage quinonique, ions calciques, anhydase carbonique).

Au niveau des cuticules non minéralisées, les canalicules épicuticulaires sont toujours présents. Leur diamètre de 25 nm ne varie pas d'un type cuticulaire à l'autre. Par contre, le système canaliculaire de la procuticule des zones cuticulaires souples est fortement réduit, par comparaison avec celui des cuticules minéralisées. Ceci constitue un argument en faveur du rôle des canaux intracuticulaires dans le processus de minéralisation de la carapace.

Nous avons montré qu'au niveau des cuticules perméables, les canalicules épicuticulaires forment non seulement un système à canaux verticaux mais encore un véritable réseau sous-épicuticulaire. Leur rôle dans les phénomènes de tannage (vraisemblablement absents dans les cuticules perméables) et de résorption de matériaux issus de l'ancienne cuticule (résorption faible ou inexistante au niveau des branchies de *Carcinus maenas* (THOREZ, COMPÈRE et GOFFINET, résultats non publiés) paraît exclu. Une telle organisation des canalicules épicuticulaires suggère que ces derniers sont probablement impliqués dans les phénomènes d'échanges ioniques, hydriques ou respiratoires.

Au niveau des membranes articulaires, les nombreux tubules horizontaux situés à la base des canalicules épicuticulaires juste sous l'épicuticule interne, assureraient la jonction entre les canalicules épicuticulaires et les canaux de la procuticule, comme c'est le cas chez les Coléoptères Élatérides où des tubules semblables ont été décrits par ZACHARUK (1972).

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leur reconnaissance à Monsieur le Professeur Ch. Jeuniaux pour ses précieux conseils et encouragements. Ils remercient également Madame N. Decloux pour sa collaboration technique dans le domaine de l'ultramicrotomie, Madame Ch. De Ridder-Breeur pour l'impression des documents photographiques et Madame O. Gilson qui a assuré la dactylographie. Ce travail a été réalisé grâce au Fonds de la Recherche Fondamentale Collective (conventions n^{os} 2.4506.83 et 2.4516.86).

RÉFÉRENCES

- BARTH, F. G. (1969) — Die Feinstruktur des Spinneninteguments. I. Die Cuticula des Laufbeins adulter häutung ferner Tiere (*Cupiennius salei* Keys). *Z. Zellforsch.*, **97**, 137-159.
- BARTH, F. G. (1970) — Die Feinstruktur des Spinneninteguments. II. Die räumliche Anordnung der Mikrofasern in der lamellierten Cuticula und ihre Beziehung zur Gestalt der Porenkanäle (*Cupiennius salei* Keys, adult, häutungsfern, Tarsus). *Z. Zellforsch.*, **104**, 87-106.
- BOULIGAND, Y. (1965) — Sur une architecture torsadée répandue dans de nombreuses cuticules d'Arthropodes. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **261** (18), 3665-3668.
- BOULIGAND, Y. (1971) — Les orientations fibrillaires dans le squelette des Arthropodes. I. L'exemple des crabes, l'arrangement torsadé des strates. *J. Microsc.*, **11**, 441-472.

- BOULIGAND, Y. (1972) — Twisted fibrous arrangements in biological materials and cholesterolic mesophases. *Tissue Cell*, **4** (2), 189-217.
- BRODY, A. R. (1970) — Observations on the fine structure of the developing cuticle of a soil mite *Oppia coloradensis* (Acarina : Cryptostigmata). *Acarologia*, **12**, 421-431.
- CHOCKALINGHAM, S. (1974) — Nature and composition of the cephalic and thoracic cuticles of the hermit crab *Clibanarius olivaceus*. *Mar. Biol.*, **26**, 329-351.
- CHRISTIANSEN, M. E. et T. D. COSTLOW (1982) — Ultrastructural study of the estuarine crab *Rhithropanopeus harrisii* : effect of the insect growth regulator, Dimilin (diflubenzuron) on the formation of the larval cuticle. *Mar. Biol.*, **66**, 217-266.
- DALINGWATER, J. E. (1975a) — S.E.M. Observations on the cuticles of some decapod Crustaceans. *Zool. J. Linn. Soc.*, **56**, 327-330.
- DALINGWATER, J. E. (1975b) — The reality of Arthropod cuticular laminae. *Cell Tissue Res.*, **163**, 411-413.
- COMPÈRE, Ph. et G. GOFFINET (1987a) — Ultrastructural shape and three-dimensional organization of the intracuticular canal systems in the mineralized cuticle of the green crab *Carcinus maenas*. *Tissue, Cell* **19** (6) (sous presse).
- COMPÈRE, Ph. et G. GOFFINET (1987b) — Elaboration and ultrastructural changes of the pore canal system in the mineralized cuticle of *Carcinus maenas* during the molting cycle. *Tissue Cell*, **19** (6) (sous presse).
- DELACHAMBRE, J. (1970) — Étude de l'épicuticule des Insectes. I. Le développement de l'épicuticule chez l'adulte de *Tenebrio molitor*. *Z. Zellforsch.*, **108**, 380-396.
- DENNELL, R. (1947) — The occurrence and significance of phenolic hardening in the newly formed cuticle of Crustacea Decapoda. *Proc. Roy. Soc. (B)*, **134**, 485-503.
- DENNELL, R. (1973) — The structure of the cuticle of the shore crab *Carcinus maenas*. *Zool. J. Linn. Soc.*, **52**, 159-163.
- DENNELL, R. (1974) — The cuticle of the crabs *Cancer pagurus* and *Carcinus maenas*. *Zool. J. Linn. Soc.*, **54**, 241-245.
- DENNELL, R. (1976) — The structure and lamination of some arthropod cuticles. *Zool. J. Linn. Soc.*, **58**, 159-164.
- DENNELL, R. (1978) — The laminae and pore canals of some arthropod cuticles. *Zool. J. Linn. Soc.*, **64**, 214-250.
- DRACH, P. (1939) — Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés décapodes. *Ann. Inst. Ocean.*, **19**, 103-392.
- DRACH, P. et C. TCHERNIGOVITZEFF (1967) — Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux Crustacés. *Vie Milieu (A)*, **18**, 595-609.
- FILSHIE, B. K. (1970) — The resistance of epicuticular components of an Insect to extraction with lipids solvents. *Tissue Cell*, **2** (1), 181-190.
- FILSHIE, B. K. (1976) — The structure and deposition of the epicuticle of the adult female cattle tick (*Boophilus microplus*). In *The Insect Integument*, ed. by HEPBURN H. R., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 193-206.
- FILSHIE, B. K. (1982) — Fine structure of the cuticle of Insects and other Arthropods. In *Insect Ultrastructure*, Vol. I, eds. KING, R. C. and H. AKAI, Plenum Press, New York and London, pp. 281-312.
- FILSHIE, B. K. and I. C. CAMPBELL (1984) — Design of an Insect cuticle associated with osmoregulation; the porous plates of chloride cells in a mayfly nymph. *Tissue Cell*, **16** (5), 789-803.
- FILSHIE, B. K. and D. S. SMITH (1980) — A proposed solution to a fine structural puzzle : the organization of gill cuticle in a crayfish (*Panulirus*). *Tissue Cell*, **12** (1), 209-226.
- GHARAGOZLOU-VAN GINNEKEN, I. D. (1976) — Particularités morphologiques du tégument des Peltidiidae (Crustacés, Copépodes). *Arch. Zool. exp. gén.*, **117**, 411-422.
- GHARAGOZLOU-VAN GINNEKEN, I. D. et Y. BOULIGAND (1973) — Ultrastructures tégmentaires chez un Crustacé Copépode, *Cleptocamptus retrogressus*. *Tissue Cell*, **5**, 413-439.

- GHARAGOZLOU-VAN GINNEKEN, I. D. and Y. BOULIGAND (1975) — Studies on the fine structure of the cuticle of *Porcellidium*, Crustacea Copepoda. *Cell Tissus Res.*, **159**, 399-412.
- GIRAUD-GUILLE, M.-M. (1984a) — Fine structure of the chitin-protein system in the crab cuticle. *Tissue Cell*, **16** (1), 75-92.
- GIRAUD-GUILLE, M.-M. (1984b) — Calcification initiation sites in the crab cuticle, the interprismatic septa. An ultrastructural cytochemical study. *Cell Tissue Res.*, **226**, 413-420.
- GIRAUD-GUILLE, M.-M. (1984c) — Les matrices extracellulaires analogues de cristaux liquides — Structure et biominéralisation — Exemple de la cuticule du Crabe *Carcinus maenas*. Thèse de Doctorat d'État, Univ. Pierre et Marie Curie, Paris VI, pp. 1-206. 4
- GNATZY, W. et F. ROMER (1984) — Arthropoda : Cuticle : formation, moulting and control. In *Biology of the Integument* : 1. Invertebrates, ed. by BEREITER-HAHN, J., A. G. MATOLTSY and K. S. RICHARDS, ed. Springer Verlag (Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo), pp. 638-684.
- GOFFINET, G. et P. COMPÈRE (1986) — Pore canals and ultrastructural organization of chitinoproteins in calcified and non-calcified layers of the cuticle of the crab *Carcinus maenas*. In *Chitin in Nature and Technology*, ed. MUZZARELLI, R. A. A., Ch. JEUNIAUX and G. W. GOODEY, ed. Plenum Publ. Corp., pp. 37-43.
- GREEN, J. et M. NEFF (1972) — A survey of the fine structure of the integument of the fiddler crab *Uca pugnator*. *Tissue Cell*, **4** (1), 137-171.
- GUBB, D. (1975) — A direct visualization of helicoidal architecture in *Carcinus maenas* and *Halocynthia papillosa* by scanning electron microscopy. *Tissue Cell*, **7**, 19-32.
- HADLEY, N. F. et B. K. FILSHIE (1979) — Fine structure of the epicuticle of the desert scorpion, *Hadrurus arizonensis*, with reference to location of lipids. *Tissue Cell*, **11**, 263-275.
- HEGDAHL, T., F. GUSTAVSEN et J. SILNESS (1977a) — The structure and mineralization of the carapace of the crab *Cancer pagurus* L. I. The endocuticle. *Zool. Scr.*, **6**, 89-99.
- HEGDAHL, T., F. GUSTAVSEN et J. SILNESS (1977b) — The structure and mineralization of the carapace of the crab *Cancer pagurus* L. II. The exocuticle. *Zool. Scr.*, **6**, 101-105.
- HEGDAHL, T., F. GUSTAVSEN et J. SILNESS (1977c) — The structure and mineralization of the carapace of the crab *Cancer pagurus* L. III. The epicuticle. *Zool. Scr.*, **6**, 215-220.
- HENDRICKS, G. M. et N. F. HADLEY (1983) — Structure of the cuticle of common house cricket with reference to the location of lipids. *Tissue Cell*, **15** (5), 768-779.
- JASPAR-VERSALI, M. F. (1985) — Le tube digestif et les processus de la digestion chez les Coléoptères Carabidés, Ptérostichidés et quelques autres familles : Étude morphologique et histoenzymologique comparée. Dissertation pour le doctorat, Univ. de Liège, pp. 1-140.
- KRISHNAN, G. (1951) — Phenolic tanning and pigmentation of the cuticle in *Carcinus maenas*. *Q. Jl. microsc. Sci.*, **92**, 333-342.
- KÜMMEL, G., H. CLAASEN et R. KELLER (1970) — Zur Feinstruktur von Cuticula und Epidermis beim Flusskrebs *Orconectes limosus* während eines Häutungszyklus. *Z. Zellforsch.*, **109**, 517-551.
- LIVOLANT, F., M.-M. GIRAUD et Y. BOULIGAND (1978) — A goniometric effect observed in section of twisted fibrous materials. *Biol. Cell.*, **31**, 159-168.
- LOCKE, M. (1966) — The structure and formation of the cuticulin layer in the epicuticle of an Insect, *Calpodex ethlius* (Lepidoptera, Hesperidae). *J. Morph.*, **118**, 461-494.
- LOCKE, M. (1969) — The structure of epidermal cell during the development of the protein epicuticle and the uptake of molting fluid in an Insect. *J. Morph.*, **127**, 7-40.
- LOCKE, M. (1976) — The role of the plasma membrane plaques and golgi complex vesicles in cuticle deposition during the moult/intermoult cycle. In *The Insect Integument*, ed. by HEPBURN, H. R., ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 237-258.

- LOCKE, M. (1983) — The structure of insect cuticle. In *Contrib. to Symp. on « Infection processis of Fungi »*, Bellagio, ed. by ROBERTS, D. W. and J. A. AIST, The Rockefeller Foundation ed. (1984), pp. 38-53.
- LOCKE, M. (1984) — Arthropoda : Epidermal Cells. In *Biology of the Integument. I. Invertebrates*, ed. by BEREITER-HAHN, J., A. G. MATOLTSY and K. S. RICHARDS, ed. Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo), pp. 502-522.
- LOCKE, M. et N. KRISHNAN (1971) — The distribution of phenoloxydases and polyphenols during cuticle formation. *Tissue Cell*, **1**, 103-126.
- MUTVEI, H. (1974) — S.E.M. Studies on arthropod exoskeletons. Part 1. Decapod Crustaceans, *Hommarus gammarus* L. and *Carcinus maenas* (L.). *Bull. Geol. Instn. Univ. Upsala : N.S.*, **4**, 73-80.
- NEVILLE, A. C. (1975) — Biology of the arthropod cuticle. In *Zoophysiology and Ecology*, vol. 4/5, ed. Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg, New York), pp. 1-418.
- NEVILLE, A. C. (1984) — Arthropoda : cuticle : organization. In *Biology of the Integument. I. Invertebrates*. Ed. BEREITER-HAHN, J., A. G. MATOLTSY and K. S. RICHARDS, ed. Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo), pp. 611-625.
- NEVILLE, A. C. et B. H. LUKE (1969a) — Molecular architecture of adult locust cuticle at the electron microscope level. *Tissue Cell*, **1**, 355-366.
- NEVILLE, A. C. et B. M. LUKE (1969b) — A two system model for chitin-protein complexes in Insect cuticles. *Tissue Cell*, **1**, 689-707.
- REYNOLDS, E. S. (1963) — The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in E.M. *J. Cell. Biol.*, **17**, 208-211.
- TALBOT, P., W. H. CLARK et A. L. LAWRENCE (1972) — Ultrastructural observations of the muscle insertion and modified branchiostegite epidermis in the larval brown shrimp, *Penaeus aztecus*. *Tissue Cell*, **4**, 613-628.
- TRAVIS, D. F. et V. FRIBERG (1963) — The deposition of skeletal structures in the Crustacea. VI. Microradiographic studies of the crayfish *Orconectes virilis* Hagen. *J. Ultrastruct. Res.*, **9**, 285-301.
- VACCA, L. L. et M. FINGERMAN (1975a) — The mechanism of tanning in the fiddler crab *Uca pugilator*. I. Tanning agents and proteins carriers in the blood during ecdysis. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, **51**, 415-481.
- VACCA, L. L. et M. FINGERMAN (1975b) — The mechanism of tanning in the fiddler crab *Uca pugilator*. II. The cyclic appearance of tanning agents and attached carrier proteins in the blood during the molting cycle. *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, **51**, 483-487.
- WELINDER, B. S. (1974) — The crustacean cuticle. I. Studies on the composition of the cuticle. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, **47**, 779-787.
- WHARTON, G. W., W. PARRISH et D. E. JOHNSTON (1968) — Observations on the fine structure of the cuticle of the spring rate mite, *Laelaps echidnina* (Acari, Mesostigmata). *Acariologia*, **10**, 206-214.
- WILBUR, K. M. (1980) — Cells, crystals and skeletons. In *The Mechanisms of Biomineralization in Animals and Plants*. Ed. OMORI, M. and N. WATABE, Proc. 3rd Intern. Biomineralization Symp., pp. 3-11.
- ZACHARUK, R. Y. (1972) — Fine structure of the cuticle, epidermis and fat body of larval Elateridae (Coleoptera) and changes associated with molting. *Can. J. Zool.*, **50**, 1463-1487.
- ZACHARUK, R. Y. (1976) — Structural changes of the cuticle associated with moulting. In *The Insect Integument*, ed. by HEPBURN, H. R., ed. Elsevier (Amsterdam), pp. 299-321.