

APPROCHE ÉCOPHYSIOLOGIQUE ET ULTRASTRUCTURALE DE L'OSMOREGULATION CHEZ LES CRUSTACÉS DECAPODES

PEQUEUX A.<sup>(1)</sup>(2) LIGNON J.<sup>(2)</sup>

RESUME - L'euryhalinité et la distribution écologique des Crustacés décapodes sont étroitement liées à la plus ou moins grande aptitude de certains tissus spécialisés à transporter les ions inorganiques  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ . C'est l'analyse de la nature de ces mouvements ioniques, ainsi que des mécanismes qui les régissent, considérés dans un contexte écophysio­logique, qui fera l'objet principal de cet article. Une attention toute particulière sera réservée à la branchie du crabe chinois *Eriocheir sinensis*, véritable modèle pour étudier les mouvements transépithé­liaux d'ions inorganiques en relation avec le contrôle de l'osmolalité sanguine chez les Crustacés. A l'appui de l'approche écophysio­logique du transport transépithé­lial branchial de  $\text{NaCl}$ , ce travail comprendra un important volet morphologique et ultrastructural ainsi qu'une analyse des propriétés de perméabilité de la cuticule qui borde l'épithélium et quelques considérations sur leurs implications possibles dans les propriétés du tissu branchial.

mots-clés: osmorégulation, Crustacés décapodes, salinité, écophysio­logie, *Eriocheir sinensis*, *Carcinus maenas*, *Maia squinado*, *Cancer pagurus*, cuticule, branchie,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$

ABSTRACT - Euryhalinity and ecological distribution of decapod Crustacea are primarily dependent on the ability of some specialized boundary epithelia to transport  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$ . This paper deals mostly with recent physiological data on ion transport across the gill tissue and an attempt is made to correlate them with blood osmoregulation and ecological distribution in euryhaline Decapods. A particular attention is paid to the gills of the fully euryhaline Chinese crab *Eriocheir sinensis*. Supporting this ecophysiological approach, there is an important ultrastructural analysis of the gill epithelium under various salinity conditions. The possible part played by the cuticle in ions movements is also considered.

key-words: osmoregulation, decapod Crustacea, salinity, ecophysiology, *Eriocheir sinensis*, *Carcinus maenas*, *Maia squinado*, *Cancer pagurus*, cuticle, gill,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$

---

(1) Université de Liège, Laboratoire de Physiologie Animale, 22 quai Van Beneden, B-4020 Liège, Belgique.

(2) Laboratoire d'Etude des Régulations Physiologiques, CNRS, 23 rue Becquerel, F-67087 Strasbourg, France.

## 1. Introduction

La plus ou moins grande capacité de tolérance à un stress osmotique constitue l'un des facteurs conditionnant largement l'établissement d'une population animale dans un milieu à salinité variable comme la zone intertidale. Il s'agit très certainement du facteur essentiel de leur réussite dans les écotones tels que les estuaires, les lagons côtiers et les mangroves.

En première analyse, la salinité peut affecter un organisme aquatique de manières directe et indirecte. Les effets directs sont à mettre en relation avec la capacité des espèces considérées d'assurer les balances hydrique et ionique de leurs fluides internes, intra et extracellulaires.

Les effets indirects résultent d'interactions plus complexes avec un ou plusieurs autres facteurs de stress tels que la température, la disponibilité en oxygène ou l'action de substances toxiques. Dans le contexte de la survie d'une population dans un milieu donné, ils revêtent donc une importance considérable. Il est malheureusement très malaisé de les appréhender du fait, notamment, du grand nombre de paramètres qui peuvent interréagir. Il s'agit probablement de la raison pour laquelle les études écophysiological menées en laboratoire n'ont jusqu'à ce jour été orientées pratiquement que vers la seule compréhension des divers mécanismes utilisés par les animaux pour assurer leur balance en eau et en ions.

Les mouvements d'eau étant déterminés par des différences d'osmolarité et l'osmolarité des fluides biologiques étant, chez les Invertébrés, essentiellement déterminée par les concentrations en ions inorganiques, ces études ont donc surtout porté sur la nature et les modalités de mouvements ioniques.

## 2. Osmorégulation des fluides intra et extracellulaires chez les Crustacés décapodes

La relation qui existe entre les osmolalités interne et externe s'exprime habituellement en termes d'*osmoconformité* et d'*osmorégulation*.

La plupart des espèces de Crustacés décapodes marins sont osmoconformes et la concentration de leur hémolymphe en ions inorganiques est, dans la grande majorité des cas, essentiellement identique à celle de l'eau de mer (EM) environnante. S'il arrive que ces concentrations diffèrent, l'osmolarité sanguine totale reste néanmoins la même que celle de l'environnement marin, et l'expérimentation dans ce domaine a conclu à l'absence virtuelle de tout gradient électrochimique de NaCl et d'eau au niveau de la surface du corps, impliquant l'absence de tout flux diffusionnel net. Les animaux relevant de tels groupes ne rencontrent donc pratiquement aucun problème d'osmorégulation et peu de problèmes d'iono-régulation tant qu'ils restent confinés au milieu marin puisque l'exigence fondamentale à un fonctionnement cellulaire optimal, à savoir le maintien d'un environnement cellulaire stable et constant, est assurée. Cette exigence est en outre assurée sans dépense énergétique puisque, pour chaque substance, l'énergie potentielle est identique dans l'hémolymphe et dans le milieu ambiant. Il n'en est plus de même quand la salinité de ce milieu varie. Il en résulte en effet une différence d'énergie potentielle entre les deux milieux, ce qui génère un flux diffusionnel d'ions inorganiques et d'eau responsable à plus ou moins court terme d'un changement de composition de l'hémolymphe. Dans ce cas, le maintien d'un environnement cellulaire stable et constant ne peut plus être assuré que si l'organisme produit en sens inverse un flux

exactement égal aux pertes diffusionnelles. Une telle réaction consomme nécessairement de l'énergie métabolique.

Chez les espèces osmoconformes, l'expérience a démontré qu'il se rétablit rapidement un équilibre de concentrations entre l'hémolymphe et le milieu extérieur lorsque la salinité de ce dernier varie. Les espèces appartenant à ce groupe semblent donc bien dépourvues de tout mécanisme de contrôle de la composition de leur milieu extracellulaire et leur aptitude à faire face à une modification de composition du milieu environnant ne dépend que de l'aptitude de leurs cellules à supporter les variations de composition des fluides extracellulaires.

Chez les espèces régulatrices, un travail est effectué par l'animal qui maintient sa concentration osmotique interne à un niveau relativement constant. Elles ne représentent, chez les Crustacés décapodes, que quelques groupes plus restreints d'espèces. Il s'agit toutefois des espèces qui ont réussi, avec plus ou moins de succès, la conquête de la plus grande variété des habitats et qui ont développé les mécanismes adaptatifs les plus intéressants.

Quelle que soit l'efficacité des mécanismes de régulation mis en oeuvre, aucune de ces espèces n'est cependant capable de maintenir l'osmolarité de son sang à un niveau rigoureusement constant, ce qui implique que, lors de leur acclimatation à un milieu de salinité différente, leurs cellules ont à surmonter un choc osmotique dont l'amplitude dépend de l'efficacité des mécanismes de contrôle au niveau sanguin.

De ce qui précède, il ressort que l'on peut difficilement dissocier l'étude des mécanismes de contrôle de la composition de l'environnement cellulaire, de l'examen des processus directement impliqués dans le maintien du volume cellulaire.

L'expérience a montré, tant *in vivo* que *in vitro*, que la durée de la phase de régulation du volume cellulaire consécutive à un choc osmotique peut être très différente d'une espèce à l'autre; il est en effet possible de dégager un certain degré de corrélation entre l'efficacité des mécanismes de régulation du volume cellulaire et le profil écophysologique de l'espèce considérée. En effet, la régulation du volume cellulaire, consécutive à l'application d'un stress hypoosmotique, est environ trois fois plus rapide chez le crabe chinois *Eriocheir sinensis*, une espèce euryhaline aux performances osmorégulatrices très élevées, que chez le crabe vert *Carcinus maenas* qui ne peut tolérer que des dilutions plus limitées (Gilles et Jeuniaux, 1979; Harris, 1976). Les espèces osmoconformes, tel le tourteau *Cancer pagurus*, semblent, elles, incapables de réguler leur volume cellulaire dans des périodes de temps comparables (Wanson et al., 1983). L'efficacité de ces processus qui relèvent du contrôle de l'osmolarité du liquide intracellulaire prend donc ici toute sa signification. Il s'agit sans aucun doute des mécanismes essentiels sinon déterminants de la distribution des espèces dans les milieux à salinité variable. Plusieurs revues leur ont été consacrées (Gilles, 1979, 1980a,b); le lecteur intéressé est invité à s'y référer.

En bref, la différence entre espèces conformes et espèces régulatrices se situe, de ce point de vue, à deux niveaux: (1) un niveau cellulaire mettant en oeuvre des mécanismes fondamentalement semblables qualitativement chez les espèces conformes et régulatrices, mais quantitativement plus puissants chez les régulateurs, (2) un niveau périphérique limitant les chocs encourus par les cellules et exclusivement rencontré chez les espèces

régulatrices.

Le diagramme de la Fig. 1 résume, de manière très schématique, l'ensemble des mécanismes engagés dans le contrôle et la régulation des balances hydrique et ionique d'un Crustacé décapode régulateur "typique".

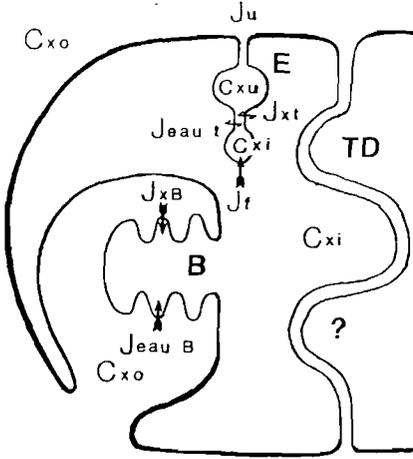


Fig. 1. Représentation schématique des mécanismes et organes engagés dans le contrôle et la régulation des balances hydrique et ionique d'un Crustacé décapode régulateur "typique". Les flèches schématisent les flux nets (contenant des composants passive et/ou active).

- Cx: concentration du soluté x dans les fluides interne (i), externe (o) et urinaire (u).
- Jx: flux du soluté x aux niveaux des branchies (B) (flux net) et du système excréteur tubulaire (t).
- Jeau: flux d'eau au niveau des branchies (B) (flux net) et du système excréteur tubulaire (t).
- Jf: vitesse d'ultrafiltration.
- Ju: vitesse de production de l'urine ( $Ju = Jeau B$ ).

### 3. Régulation anisosmotique des fluides extracellulaires

Si les mécanismes de régulation des fluides extracellulaires, éventuellement doublés d'adaptations comportementales (vie dans des terriers ou fait de se soustraire temporairement aux fluctuations de salinité) déterminent dans une large mesure les possibilités de colonisation des écotones à salinité variable, il est évident que l'acquisition de mécanismes de contrôle et de régulation de l'osmolalité sanguine contribue à assurer le succès de nombreuses espèces dans leur conquête des milieux dilués.

Chez les Crustacés décapodes, le rôle déterminant joué par les branchies dans ces mécanismes de régulation a été reconnu depuis longtemps. Dans les années '50, Koch suggérait déjà que les diverses branchies pouvaient être morphologiquement et fonctionnellement différentes et que le flux entrant de  $Na^+$  était, chez le crabe chinois, nettement plus important dans les branchies situées postérieurement que dans les branchies antérieures (Koch et al., 1954). Le développement plus récent de préparations perfusées de branchies isolées a permis de conclure à l'existence, chez le crabe chinois *E. sinensis* mais également chez la plupart des espèces hyper-régulatrices en milieu dilué, à une véritable spécialisation physiologique de certaines branchies ou tout au moins de certaines régions des lamelles branchiales (pour revue: Gilles et Péqueux, 1981, 1983, 1985, 1986). A cet égard, il est apparu que la branchie du crabe chinois pouvait être considérée comme un véritable modèle pour étudier les mouvements transépithéliaux d'ions inorganiques en relation avec le contrôle de l'osmolalité sanguine chez les Crustacés.

### 3.1. Etude structurale et fonctionnelle de la branchie d'*E. sinensis*

#### 3.1.1. En milieu dilué (ED)

Chez le crabe chinois d'eau douce, l'épithélium des trois paires de branchies les plus postérieures apparaît comme beaucoup plus épais (10  $\mu\text{m}$  et plus) que l'épithélium des branchies situées antérieurement (2-4  $\mu\text{m}$ ). Il est bordé extérieurement d'une cuticule qui tend, par contre, à être plus mince (0,3  $\mu\text{m}$  contre 1  $\mu\text{m}$ ). L'épithélium des branchies postérieures est caractérisé par un important système de plissements et d'invaginations des membranes plasmiques situées aux poles apical et basolatéral des cellules. L'espace cytoplasmique est occupé d'un nombre considérable de mitochondries (Péqueux et Barra, 1980; Péqueux et al., 1980; Gilles et Péqueux, 1981; Barra et al., 1983). Ce type de structure est tout à fait caractéristique des "épithélia transporteurs de sels".

L'étude fonctionnelle sur préparation perfusée a permis de confirmer, en parfait accord avec les conclusions de l'étude ultrastructurale, que seules les branchies postérieures sont le siège des mécanismes de transport actif transépithélial d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  (Péqueux et Gilles, 1981; Gocha et al., 1987) (Fig. 2). Les branchies antérieures ne semblent être le siège

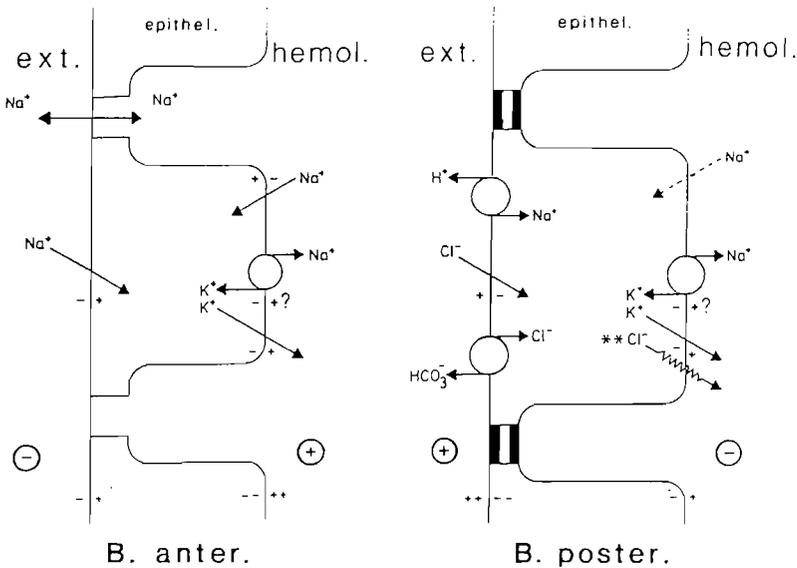


Fig. 2. Modèle fonctionnel des branchies antérieure et postérieure du crabe chinois *E. sinensis* d'eau douce. Les divers systèmes de transport schématisés ont été placés en accord avec les mesures de flux ioniques et de potentiels électriques effectués sur des branchies isolées et perfusées. Les deux faces de l'épithélium sont baignées de solutions physiologiques identiques (d'après Péqueux et Gilles, 1987).

d'aucun transport transépithélial d'ions  $\text{Cl}^-$  (Gocha et al., 1987) et les mouvements de  $\text{Na}^+$  y restent de nature essentiellement passive (Péqueux et Gilles, 1981) (Fig. 2). Ces observations concordent parfaitement avec les résultats de l'étude ultrastructurale et semblent ne réserver à ces branchies qu'une signification essentiellement respiratoire. Toutefois, il a été établi que la "perméabilité apparente" de cet épithélium aux ions  $\text{Na}^+$  dépend de la concentration de cet ion dans le milieu environnant (Péqueux et Gilles, 1981). En effet, une diminution de la concentration externe en  $\text{Na}^+$  entraîne une diminution immédiate de "perméabilité apparente" au  $\text{Na}^+$ . Chez une espèce régulatrice comme le crabe chinois qui est confronté à des milieux très dilués, un tel réajustement présente un intérêt physiologique considérable puisque la perte de sels se trouve être diminuée en dépit de l'augmentation du gradient de concentration ionique transépithélial. Le maintien des balances ionique et osmotique sanguines s'en trouve donc être facilité. Nous verrons plus loin qu'en plus de tels "réajustements immédiats" de la "perméabilité épithéliale apparente" au  $\text{Na}^+$ , il est également possible de déceler des réajustements "à plus long terme" dont la signification est identique. Ces mécanismes, de même d'ailleurs que l'extrêmement bas niveau de la "perméabilité apparente" au  $\text{Na}^+$  des branchies postérieures, peuvent être considérés comme une catégorie de "processus limitants" contribuant à assurer, aux côtés des "processus compensatoires" comme les transports actifs, le contrôle de l'osmolalité sanguine.

### 3.1.2. En eau de mer (EM)

L'ultrastructure de l'épithélium des *branchies antérieures* reste, après acclimatation à l'eau de mer, fondamentalement semblable à ce qu'elle était en eau douce (Péqueux et al., 1987). L'amplitude des flux unidirectionnels de  $\text{Na}^+$  a, par contre, considérablement augmenté (Péqueux et Gilles, 1981). Elle atteint en outre un niveau largement supérieur à celui mesuré dans les mêmes conditions expérimentales sur les branchies d'un crabe d'eau douce, suggérant que la perméabilité au  $\text{Na}^+$  a dû diminuer de façon significative lors de l'acclimatation prolongée à l'eau douce. Ce réajustement "à long terme" de la perméabilité au  $\text{Na}^+$  semble différent du réajustement immédiat rapporté précédemment. Bien que contribuant tous deux à limiter l'importance de la *perte de sels* en milieu dilué, il est probable que les deux systèmes aient des bases moléculaires différentes et répondent à des messages différents.

Dans les *branchies postérieures*, l'acclimatation à l'eau de mer s'accompagne d'une régression considérable, voire de la disparition complète, du système d'invaginations apicales (Péqueux et al., 1987). Parallèlement, les flux transépithéliaux de  $\text{Na}^+$  tombent à un niveau indétectable. L'expérience a prouvé que l'activité du/des mécanisme(s) de transport actif est sensible à la concentration en  $\text{Na}^+$  de l'hémolymphe et que l'élévation de concentration sanguine en  $\text{Na}^+$  qui se produit en EM suffit à elle seule à interrompre de manière durable son/leur activité (Péqueux et Gilles, 1981).

### 3.1.3. Lors du passage EM-ED

Du point de vue ultrastructural, l'épithélium des branchies postérieures évolue progressivement vers le schéma caractéristique d'un animal d'ED par apparition de "blebs" à la base des quelques rares replis apicaux, le creusement de citernes à ce niveau ainsi que la formation de replis de plus en plus profonds. Le processus nécessite environ cinq jours (Gilles et Péqueux, 1985; Péqueux et al., 1987) (Fig. 3).

Parallèlement, l'activité de transport actif ne se restaure que très

progressivement. Le transport actif de  $\text{Na}^+$ , à en juger par la mesure des flux unidirectionnels et l'activité de la  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ , ne retrouve en effet son niveau maximum qu'après huit jours d'acclimatation, bien qu'un niveau significatif soit déjà atteint après trois jours (Péqueux et Gilles, résultats non publiés).

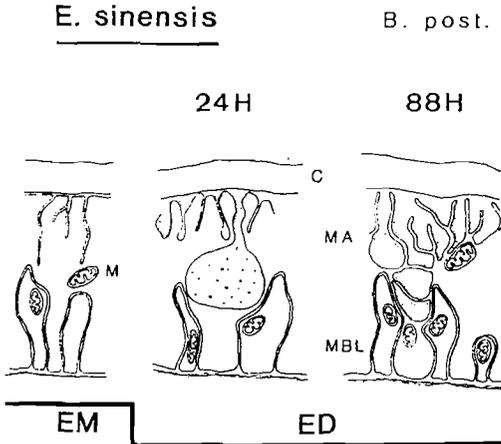


Fig. 3. Représentation schématique des changements ultrastructuraux qui se produisent dans l'épithélium des branchies postérieures du crabe chinois *E. sinensis* lors du passage de l'eau de mer (EM) à l'eau douce (ED). C: cuticule, M: mitochondrie, MA: membrane apicale, MBL: membrane baso-latérale.

### 3.2. Applicabilité du modèle *Eriocheir* aux autres Crustacés décapodes

De ce qui précède, il ressort que la branchie d'*Eriocheir sinensis* apparaît comme un matériel particulièrement intéressant pour étudier les mouvements d'ions transépithéliaux en relation avec l'osmorégulation sanguine chez les Crustacés et progresser vers une meilleure compréhension des relations structure-fonction à ce niveau.

Dans quelle mesure ce modèle est-il toutefois applicable aux autres espèces de Crustacés ?

D'une étude comparée des branchies de trois crabes appartenant à des catégories écophysiologiques différentes, à savoir l'osmoconforme euryhalin *Cancer pagurus*, l'hyperrégulateur médiocre *Carcinus maenas* et l'hyperrégulateur puissant *Eriocheir sinensis*, il ressort que l'organisation structurale de ces branchies et leurs propriétés physiologiques peuvent être mises en relation directe avec les capacités d'osmorégulation des espèces considérées.

Cette relation est, en effet, particulièrement nette chez le crabe chinois *E. sinensis*.

Chez le tourteau *Cancer pagurus*, une espèce osmoconforme incapable de contrôler son osmolalité sanguine, toutes les branchies ne sont limitées que par un épithélium peu différencié, de type respiratoire, et l'étude des propriétés de leur différence de potentiel électrique transépithéliale ne permet d'identifier aucune activité de transport (Péqueux et al., 1984).

Chez l'hyperrégulateur modéré *Carcinus maenas*, les deux types d'épithélia existent: respiratoire et de type transporteur. L'épithélium transporteur est également limité aux branchies postérieures mais son étendue ne

correspond qu'à 30% maximum de la surface lamellaire totale (Compère et al., 1985). D'expériences réalisées sur branchies isolées et perfusées, il est apparu que les propriétés physiologiques de la branchie entière correspondent à la résultante des propriétés spécifiques des deux types d'épithélia, à savoir un épithélium respiratoire très perméable aux ions  $\text{Na}^+$  et un épithélium transporteur peu perméable au  $\text{Na}^+$  comme chez le crabe chinois *E. sinensis*. Contrairement à la situation qui prévaut chez le crabe chinois, les branchies postérieures de *C. maenas* sont en effet le siège de mouvements passifs de  $\text{Na}^+$  considérables (Wanson et Péqueux, ce volume). Il est donc très vraisemblable que les performances écophysiologicals modérées du crabe vert soient en relation directe avec le développement restreint de tissu spécialisé dans la récupération active et la limitation des pertes de sels.

De ce qui précède, il apparaît donc clairement que le modèle d'organisation structurale et fonctionnelle de la branchie d'*E. sinensis* peut être parfaitement appliqué, moyennant quelques adaptations spécifiques, aux autres crabes euryhalins.

#### 4. Signification physiologique de la cuticule

Jusqu'à ce jour, les physiologistes de la branchie ont presque systématiquement ignoré, dans leurs modèles fonctionnels, la cuticule chitineuse qui borde l'épithélium à sa face apicale. Des travaux récents tendent pourtant à démontrer que cette cuticule pourrait jouer un rôle non négligeable dans les propriétés de perméabilité du tissu branchial (Avenet et Lignon, 1985; Lignon, 1987b) et donc revêtir une signification écophysiological importante (Lignon, 1987a).

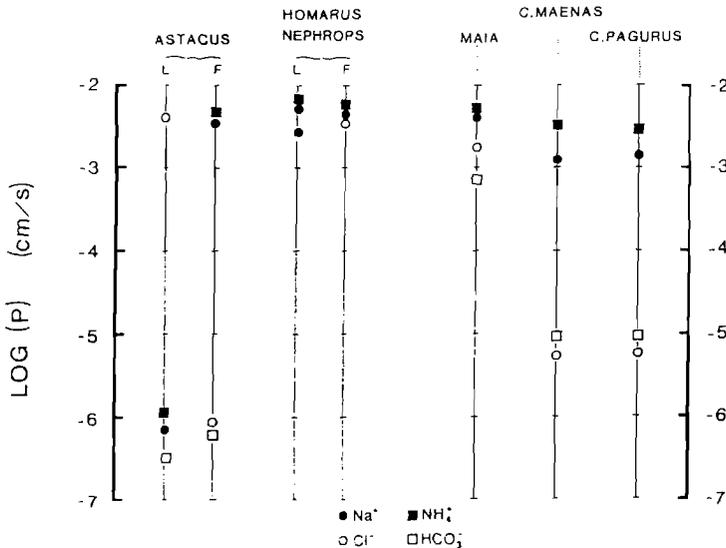


Fig. 4. Valeurs comparées de perméabilité cuticulaire pour quelques espèces ioniques chez divers Crustacés décapodes; F: filaments branchiaux, L: lame branchiale (chez les astacidés).

Par des méthodes électrophysiologiques, Lignon a en effet démontré que si la cuticule branchiale est perméable aux ions, le degré de perméabilité n'en varie pas moins en fonction de la nature des ions, de l'espèce de Crustacé considérée et, dans certains cas, de la localisation branchiale de la cuticule. Chez le crabe araignée *Maia squinado*, une espèce sténohaline marine, la cuticule est très perméable à toutes les espèces ioniques et aucune sélectivité ne se manifeste; les caractéristiques de la cuticule sont voisines de celles qui sont observées chez les Astacidés marins tels que le homard et la langoustine. Chez toutes les autres espèces de crabes étudiés, *Cancer pagurus*, *Carcinus maenas*, *Eriocheir sinensis* et, pour les filaments branchiaux de l'écrevisse, la perméabilité au  $\text{Cl}^-$  est notablement réduite (d'un facteur 500 à 10 000) entraînant de ce fait une forte sélectivité au  $\text{Na}^+$  et une imperméabilisation au  $\text{NaCl}$  (Lignon, 1987a,b; Lignon et Péqueux, 1987).

Chez *C. pagurus*, aucune différence n'a été observée entre les diverses branchies, mais chez *E. sinensis*, des différences quantitatives ont été enregistrées entre branchies antérieures et postérieures. De même, il s'est avéré que l'imperméabilisation de la cuticule de la lame branchiale d'écrevisse résulte d'une perméabilité réduite au  $\text{Na}^+$  entraînant une forte sélectivité au  $\text{Cl}^-$  (Avenet et Lignon, 1985; Lignon *et al.*, 1987) alors que le phénomène inverse est observé dans les filaments (Lignon et Lenoir, 1985) qui lui sont juxtaposés (Figs. 4 et 5).

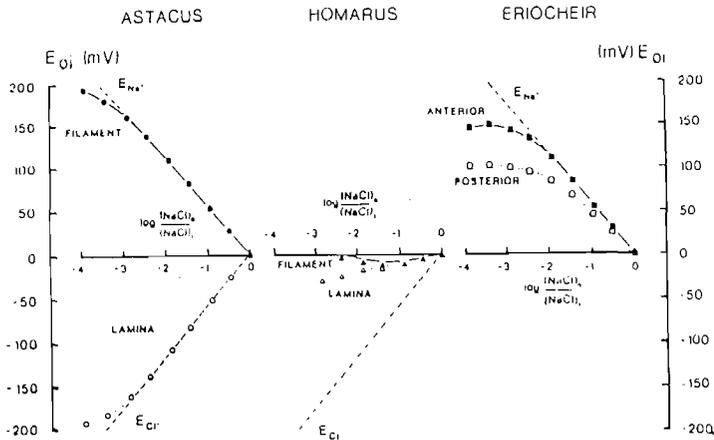


Fig. 5. Différence de potentiel électrique transcuticulaire ( $E_{O_i}$ ) chez quelques espèces de Crustacés décapodes. Les valeurs de  $E_{O_i}$ , obtenues par dilution de la solution de  $\text{NaCl}$  externe, sont données en référence au compartiment baignant la face interne de la cuticule.  $E_{\text{Na}^+}$  et  $E_{\text{Cl}^-}$ : potentiels d'équilibre des ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  (d'après Lignon, 1987a).

Une étude plus précise des perméabilités des cuticules branchiales montre en outre que la sélectivité de la cuticule branchiale ne se limite pas simplement à une discrimination entre cations et anions (Lignon, 1987a). Pour les cuticules de crabe et les filaments d'écrevisse, les perméabilités varient en fonction du cation utilisé (Lignon et Lenoir,

1985; Lignon, 1987b). Il en va de même pour la cuticule de la lame d'écrive vis-à-vis des anions (Avenet et Lignon, 1985; Aubert et Lignon, 1986).

Par ailleurs, il a également été montré que les cuticules branchiales sont fonctionnellement asymétriques: Les potentiels transcuticulaires obtenus en effectuant des changements ioniques, soit sur une face, soit sur l'autre, ne changent pas uniquement de signe mais changent aussi d'amplitude (Avenet et Lignon, 1985; Lignon et Lenoir, 1985; Lignon, 1987b). Cette asymétrie fonctionnelle a été plus largement étudiée sur la lame d'écrive et montre très clairement des propriétés non ohmiques de la cuticule qui présente une forte rectification au  $Cl^-$  (Lignon et al., 1987). L'ensemble de ces résultats ne paraît pouvoir s'expliquer qu'en attribuant la sélectivité cuticulaire à une des couches les plus externes de la cuticule, vraisemblablement l'épicuticule, alors que l'endocuticule agirait comme une simple couche de diffusion.

De ces travaux, il ressort donc clairement que les propriétés de perméabilité de la cuticule branchiale des Crustacés décapodes peuvent varier nettement d'une espèce à l'autre ainsi qu'en fonction de la localisation dans la branche. La cuticule des espèces osmocoformes ne présente pas de sélectivité ionique marquée et est très nettement plus perméable que celle des espèces régulières. Ceci laisse 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 préciser. Le rôle de la cuticule pourrait être triple. En fonction de son degré de perméabilité, la cuticule pourrait réduire les effets de variations brusques de la composition du milieu ambiant sur ce 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 perméabilité 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.

##### 5. Conclusion et perspectives

De l'analyse qui précède, il ressort que le profil des réponses d'un organisme, voire d'une population, aux sollicitations de l'environnement est largement, sinon principalement, déterminé par quelques particularités adaptatives de sa/leur physiologie. Ces particularités adaptatives sont pratiquement impossibles à dégager de travaux menés sur le terrain et ont nécessairement échappé aux trop nombreuses investigations écologiques cherchant à comprendre la distribution d'une espèce animale en abordant l'environnement dans son ensemble. Seule l'expérimentation en laboratoire devrait permettre de les révéler et les résultats obtenus à ce jour sont, à cet égard, particulièrement encourageants.

L'expérimentation sur préparation perfusée de branche isolée a par exemple débouché sur une caractérisation plus claire des mécanismes et des forces mis en oeuvre dans le contrôle et la régulation de la composition des fluides intra et extracellulaires chez les Crustacés décapodes, que n'avaient pu le faire les travaux "classiques" réalisés sur l'animal entier. Au-delà de préoccupations purement écophysiologiques, le modèle d'organisation structurale et fonctionnelle de la branche de Crustacés décapodes est en outre apparu comme un outil performant pour aborder l'étude des relations structure-fonction en général, et dans les épithélia transporteurs de sels en particulier.

Si certains des résultats rapportés dans cet article sont encore fragmentaires, l'intérêt de cette approche justifie largement l'analyse qui en a été faite. Elle a notamment permis d'identifier, parmi les diverses branchies ou au sein d'un même organe parfois, une certaine forme de spécialisation physiologique. Elle a aussi et surtout révélé le tissu branchial comme une structure composite opposant plusieurs barrières successives au passage de diverses substances: une cuticule, un espace sous-cuticulaire et un épithélium pour lequel il faut de plus considérer les voies transcellulaire (membranes apicale et basolatérale) et paracellulaire. Leur étude approfondie mérite d'être poursuivie et étendue à la plus grande variété d'espèces possibles de manière à en préciser l'importance relative en fonction du profil écophysiological de l'espèce considérée. C'est de l'intégration des diverses informations qui en résulteront que l'on pourra aboutir à une meilleure compréhension des stratégies développées pour surmonter les contraintes opposées par les milieux à salinité variable.

- 
- AUBERT A., LIGNON J.M., 1986. Cuticular anionic selectivity in the gill lamina of the crayfish. *Europ. Soc. for Comp. Physiol. Biochem.*, 8th Conf., Strasbourg, August 31-September 2, 1986.
- AVENET P., LIGNON J.M., 1985. Ionic permeabilities of the gill lamina cuticle of the crayfish, *Astacus leptodactylus* (E), *J. Physiol. (Lond.)*, 363, 377-401
- BARRA J.A., PEQUEUX A., HUMBERT W., 1983. A morphological study on gills of a crab acclimated to fresh water. *Tissue and Cell*, 15, 583-596.
- COMPÈRE Ph., PEQUEUX A., GOFFINET G., GILLES R., 1985. Ultrastructure of the branchial epithelium of the green crab, *Carcinus maenas*, as a function of the salinity of the environment. *Biol. Cell*, 54, 7a.
- GILLES R., 1979. Mechanisms of Osmoregulation in Animals. Wiley-Interscience, London, New York, 667 p.
- GILLES R., 1980a. Cell volume control as studied in crustacean tissues. In: Gilles R. (ed.). *Animals and Environmental Fitness*, vol. 2. Pergamon Press, Oxford, New York, pp. 3-24.
- GILLES R., 1980b. Mechanisms of volume regulation and control of the level of intracellular osmotic effectors. In: Engell H.C. (ed.). *Metabolic Response to Surgery and Injury. Am. J. Par. Nutr.*
- GILLES R., JEUNIAUX Ch., 1979. Osmoregulation and ecology in media of fluctuating salinity. In: Gilles R. (ed.). *Mechanisms of Osmoregulation in Animals*. Wiley-Interscience, London, New York, pp. 581-608.
- GILLES R., PEQUEUX A.J.R., 1981. Cell volume regulation in crustaceans: relationship between mechanisms for controlling the osmolality of extracellular and intracellular fluids. *J. Exp. Zool.*, 215, 351-362.
- GILLES R., PEQUEUX A., 1983. Interactions of chemical and osmotic regulation with the environment. In: Bliss D. (ed). *The Biology of Crustacea*, vol. 8. Academic Press, London, pp. 109-177.
- GILLES R., PEQUEUX A., 1985. Ion transport in crustacean gills: Physiological and ultrastructural approaches. In: Gilles R. et Gilles-Baillien (eds). *Transport Processes, Iono- and Osmoregulation*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 136-158.
- GILLES R., PEQUEUX A., 1986. Physiological and ultrastructural studies of NaCl transport in crustacean gills. *Boll. Zool.* 53: 173-182.
- GOCHA N., PEQUEUX A., WANSON S., GILLES R., 1987. Cl<sup>-</sup> fluxes across isolated, perfused gills of the Chinese crab *Eriocheir sinensis* (M. Edw.) acclimated to fresh water. *Comp. Biochem. Physiol.* (sous presse).

- HARRIS R.R., 1976. Extracellular space changes in *Carcinus maenas* during adaptation to low environmental salinity. *J. Physiol. (Lond.)* 258: 31-32.
- KOCH H.J., EVANS J., SCHICKS E., 1954. The active absorption of ions by the isolated gills of the crab *Eriocheir sinensis* (M. Edw.). *Meded. K. Vlaam Acad. Wet Kl. Wet.*, 16, 1-16.
- LIGNON J.M., 1987a. Structure and permeability of decapod crustacea cuticle. In: Kirsch R., Lahlou B. (eds). *Comparative Physiology of Environmental Adaptations. Part I: Adaptations to Salinity and Dehydration*. Karger, Bâle, pp. 178-187.
- LIGNON J.M., 1987b. Ionic permeabilities of the isolated gill cuticle of the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* (sous presse).
- LIGNON J.M., AUBERT A., AVENET P., 1987. Rectification retardée aux ions  $Cl^-$  dans la lame branchiale de l'Ecrevisse, *Astacus leptodactylus* (E). *C.R. Acad. Sci. B*, 304: 473-476.
- LIGNON J., LENOIR P., 1985. Perméabilités ioniques de la cuticule des filaments branchiaux de l'Ecrevisse *Astacus leptodactylus* (E). *C.R. Acad. Sci. B*, 301, 443-446.
- LIGNON J.M., PEQUEUX A., 1987. Perméabilités ioniques comparées de la cuticule branchiale de quelques Crustacés décapodes. *Ass. Physiol.* Paris, 12-13 mai 1987.
- PEQUEUX A., BARRA J.A., 1980. Fine structure of the gill epithelium of the euryhaline crab *Eriocheir sinensis* as a function of the salinity of the acclimation medium. *Eur. J. Cell. Biol.* 22, 470.
- PEQUEUX A., BARRA J.A., GILLES R., 1987. Sub-cuticular spaces and osmotic adaptations. In: Kirsch R. et Lahlou B. (eds). *Comparative Physiology of Environmental Adaptations. Part I: Adaptations to Salinity and Dehydration*. Karger, Bâle, pp. 188-197.
- PEQUEUX A., BARRA J.A., GOESSENS G., WANSON S., GILLES R., 1984. Fine structure of gill epithelium in three crabs, as related to their ionoregulation performances. Abstract volume, First Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (Section of IUBS), Liège (Belgium), Aug. 27-31, 1984, p. B-135.
- PEQUEUX A.J.R., BARRA J.A., NONNOTTE L., KIRSCH R., GILLES R., 1980. Fine structure of salt-absorbing epithelium in gills of the crab *Eriocheir sinensis* acclimated to freshwater. In: Gilles R. (ed.). *Animals and Environmental Fitness. Comp. Biochem. Physiol.*, suppl. 2, Abstract vol. Pergamon, Oxford, pp. 13-14.
- PEQUEUX A.J.R., GILLES R., 1981.  $Na^+$  fluxes across isolated perfused gills of the chinese crab *Eriocheir sinensis*. *J. Exp. Biol.*, 92, 173-186.
- PEQUEUX A., GILLES R., 1987. The transepithelial potential difference of isolated perfused gills of the chinese crab *Eriocheir sinensis* acclimated to freshwater. *Comp. Biochem. Physiol.* (sous presse).
- WANSON S., PEQUEUX A., GILLES R., 1983. Osmoregulation in the stone crab *Cancer pagurus*. *Mar. Biol. Lett.* 4: 321-330.