

MISE EN PLACE DE L'ÉPICUTICULE CHEZ LE CRABE Carcinus maenas

COMPÈRE, Ph.<sup>(1)</sup>

**RESUME** - L'épicuticule du crabe Carcinus maenas se compose toujours de trois couches distinctes : le recouvrement fibreux superficiel, la cuticuline et l'épicuticule interne. Comme chez les Insectes, la cuticuline est la première couche mise en place sous forme de courts segments au niveau des plaques denses de l'apex des cellules ectodermiques. La fusion de ces segments aboutit à la formation d'une couche pentalamellaire continue de 37 nm d'épaisseur. Au cours d'une seconde étape, l'épicuticule interne est secrétée au contact immédiat de la face interne de la cuticuline sans l'intervention de plaques denses, absentes de l'apex des cellules ectodermiques. Le dépôt du recouvrement fibreux superficiel n'a lieu qu'au cours des stades tardifs de la période préecdysiale (D2-D3). Au niveau des sclérites, cette organisation caractéristique de l'épicuticule persiste au cours de l'intermue. Elle paraît subir des modifications plus ou moins importantes au niveau des zones cuticulaires perméables (branchies).

mots-clés : épicuticule, cuticuline, Carcinus maenas.

**ABSTRACT** - The epicuticle of the crab Carcinus maenas consists in three distinct layers : the fibrous surface coat, the cuticulin layer and the inner epicuticle. As in Insects, short segments of the cuticulin layer are first deposited at the top of dense plaques of the ectodermal cell membrane. Their assembling gives rise to a five-layered continuous structure of about 37 nm thick. Afterwards, the inner epicuticle is added inside close to the cuticulin layer but dense plaques are not concerned with the phenomenon. The deposition of the fibrous surface coat outside to the cuticulin layer takes place only during late postmolt stages (D2-D3). In mineralized cuticles, this typical epicuticle structure persists during all intermolt long. In contrast, it seems to be more or less greatly modified in permeable cuticular regions (gill cuticle).

key-words : epicuticle, cuticulin, Carcinus maenas.

---

(1) Aspirant au Fonds National de la Recherche Scientifique (Belgique).  
- Laboratoire de Morphologie animale, Université de Liège, Institut de Zoologie, 22, quai Van Beneden, B-4020 LIÈGE (Belgique).  
- Ce travail a été réalisé grâce au Fonds de la Recherche Fondamentale Collective (conventions n°s 2.4506.83 et 2.4516.86).

## INTRODUCTION

L'épicuticule des Arthropodes apparaît le plus souvent comme une couche cuticulaire superficielle pluristratifiée. Malgré sa faible épaisseur (0.1 à 3  $\mu\text{m}$ ), son importance est considérable. Mise en place dès le début de la période préecdysiale, elle constitue à tout instant du cycle de mue l'interface entre le milieu externe et l'organisme. Continue, elle limite les régions tégumentaires les plus diverses et montre une structure variable en rapport avec la spécialisation mécanique ou physiologique du tégument. On lui reconnaît ainsi un rôle primordial dans la perméabilité cuticulaire.

Chez les Insectes, la structure, l'origine et la formation des couches épicuticulaires sont relativement bien connues pour plusieurs espèces grâce aux travaux de Locke (1966, 1969, 1976), Filshie et Waterhouse (1969), Delachambre (1970), Filshie (1970, 1982) et Gnatzy et Romer (1984). Chez les Crustacés par contre, la plupart des auteurs se limitent à une simple description des couches successives telles qu'elles apparaissent en intermue. L'épicuticule des sclérites est généralement subdivisée en deux parties : l'épicuticule externe et l'épicuticule interne (Green et Neff, 1972; Christiansen et Costlow, 1982). L'épicuticule externe est une mince couche superficielle apparemment composée de plusieurs strates dont une au moins correspondrait à la cuticuline décrite par Locke (1966) chez les Insectes. L'épicuticule interne, plus épaisse, est formée d'une matrice dense aux électrons. Elle émet vers le bas des prolongements coniques, ou racines épicuticulaires, pénétrant la procuticule. Elle est traversée par un grand nombre de minces canalicules verticaux de 25 nm de diamètre, les canalicules épicuticulaires, en relation directe avec les canaux de la procuticule (Compère et Goffinet, 1987b et c).

Le but de ce travail est d'établir avec certitude quels éléments ou strates interviennent dans la formation de l'épicuticule du crabe Carcinus maenas. Dans cette optique, nous nous sommes intéressés au problème de la mise en place de ces strates ainsi qu'à leur évolution au cours du cycle de mue. Ces informations nous ont permis d'établir des correspondances entre plusieurs strates épicuticulaires des Insectes et des Crustacés, et d'aborder ainsi le problème de leur homologie.

## MATERIEL ET METHODES

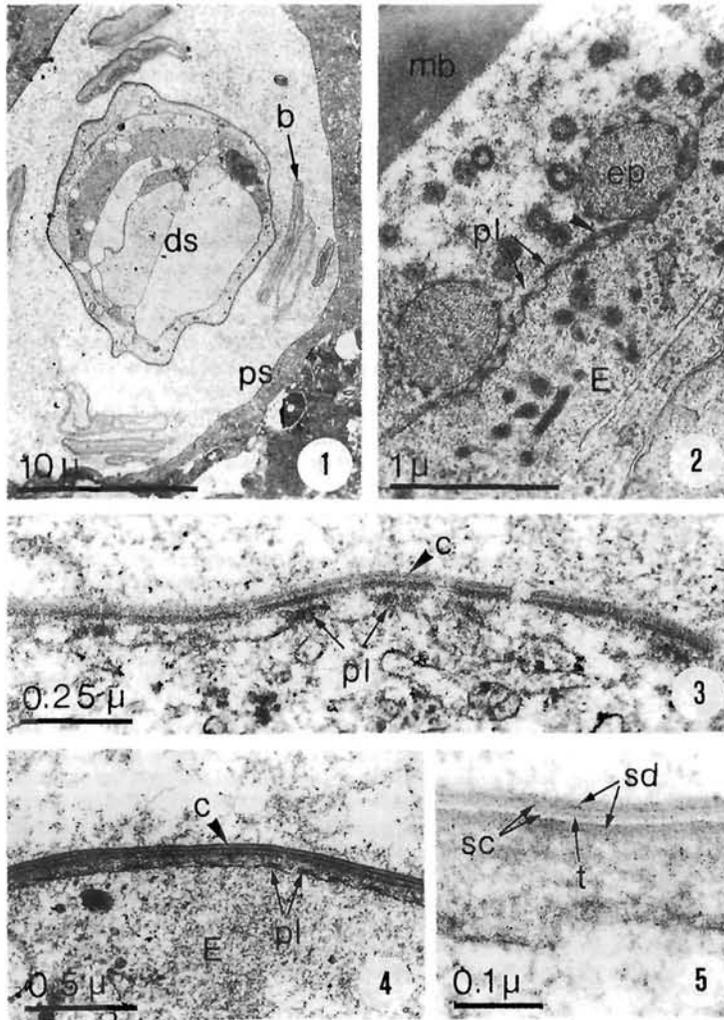
Les crabes Carcinus maenas, de 2 à 3 cm de long, ont été récoltés à la Station Marine de Wimereux (France). Les stades du cycle de mue ont été déterminés selon la méthode de Drach et Tchernigovtzeff (1967), complétée par Vilotte (1982) et Anger (1983). Des fragments de différentes zones cuticulaires minéralisées (sclérites) telles que le bouclier céphalique, la lame branchiostège interne et l'abdomen, ont été isolés et préparés selon la technique classique pour la microscopie électronique à transmission (milieu d'enrobage, Epon 812). Nos observations ont été réalisées à l'aide de microscopes électroniques à transmission de types Siemens 101 et Jeol 100 SX sous une tension d'accélération de 80 kV.

## RESULTATS

Quel que soit le sclérite examiné, la mise en place des premières strates épicuticulaires s'effectue au stade D1", après le creusement de l'espace ecdysial, par dégradation des strates de la couche membraneuse. Les soies en formation font toutefois exception à la règle (Fig.1). Ces formations sont en effet toujours plus précoces de telle sorte que l'observation depuis la base de leur matrice jusqu'à leur sommet permet de suivre la progression de la mise en place des composantes épicuticulaires.

Après l'apparition de l'espace ecdysial, l'ectoderme montre une surface ondulée, préfigurant déjà les futurs reliefs cuticulaires tels que les épines épicuticulaires (Fig.2). La membrane plasmique est garnie de plaques denses régulièrement espacées et au sommet desquelles un matériel dense aux électrons semble s'accumuler. A la base des soies en formation, les plaques denses sont déjà coiffées de courts segments d'apparence pentalamellaire (Fig.3). Vers l'extrémité distale des soies, on assiste à la croissance puis à la fusion de ces segments en plaques plus étendues, de manière à former finalement une couche continue de 37 nm d'épaisseur (Fig.4) que nous avons appelée cuticuline par analogie avec celle décrite chez les Insectes (Locke, 1966). Cette dernière montre une structure pentalamellaire symétrique (Fig.5). On y distingue aisément deux strates denses aux électrons de 12 nm d'épaisseur, encadrant deux strates claires plus minces (5 nm) et séparées par une fine strate de densité électronique élevée. Au niveau des barbules proches de l'extrémité distale des soies, l'épicuticule interne est en cours d'élaboration au contact direct de la face de la cuticuline (Fig.6). A ce niveau, la membrane plasmique est dépourvue de plaques denses.

Au début du stade D2, la nouvelle cuticule du feuillet externe de la lame branchiostège (Fig.7), comprend les premières lamelles de la couche pigmentaire en cours de formation, l'épicuticule interne, épaisse de 2 à 3  $\mu\text{m}$ , ainsi que la cuticuline qui se trouve en contact direct avec le liquide ecdysial. Durant la seconde moitié de la période préecdysiale, la cuticuline est progressivement recouverte d'un revêtement fibreux dense aux électrons (Figs.8 et 9). Après l'exuviation, l'épicuticule ne semble plus subir de modification structurale importante. A partir de cet instant, la cuticuline se distingue difficilement des autres couches épicuticulaires auxquelles elle est partiellement intégrée (Figs.10 et 11). La strate inférieure dense aux électrons semble en effet fusionner avec la matrice de l'épicuticule interne alors que la strate supérieure est étroitement accolée au recouvrement fibreux superficiel. Les deux strates claires ainsi que la strate médiane demeurent bien visibles.



Figs.1-5. *Lame branchiostège* du stade D1'''. Fig.1. Matrice sétigère en section transversale. b, barbulles de la soie; ds, portion distale de la future soie; ps, portion proximale. Fig.2. Apex des cellules ectodermiques (E) dont la membrane plasmique porte de nombreuses plaques denses (pl.). ep, épines épicuticulaires en formation; es, espace ecdysial; mb, couche membraneuse en cours de dégradation. Fig.3. Base d'une soie en formation montrant de courts segments de cuticuline (c) au sommet des plaques denses (pl) de la membrane plasmique. Fig.4. Cuticuline (c) formant une couche continue au niveau de la portion distale d'une future soie à proximité de la surface de l'ectoderme (E). pl, plaques denses. Fig.5. Fort grossissement montrant la structure pentalamellaire de la cuticuline nouvellement mise en place. sd, strates denses aux électrons; sc, strates claires aux électrons; t, fine strate médiane.

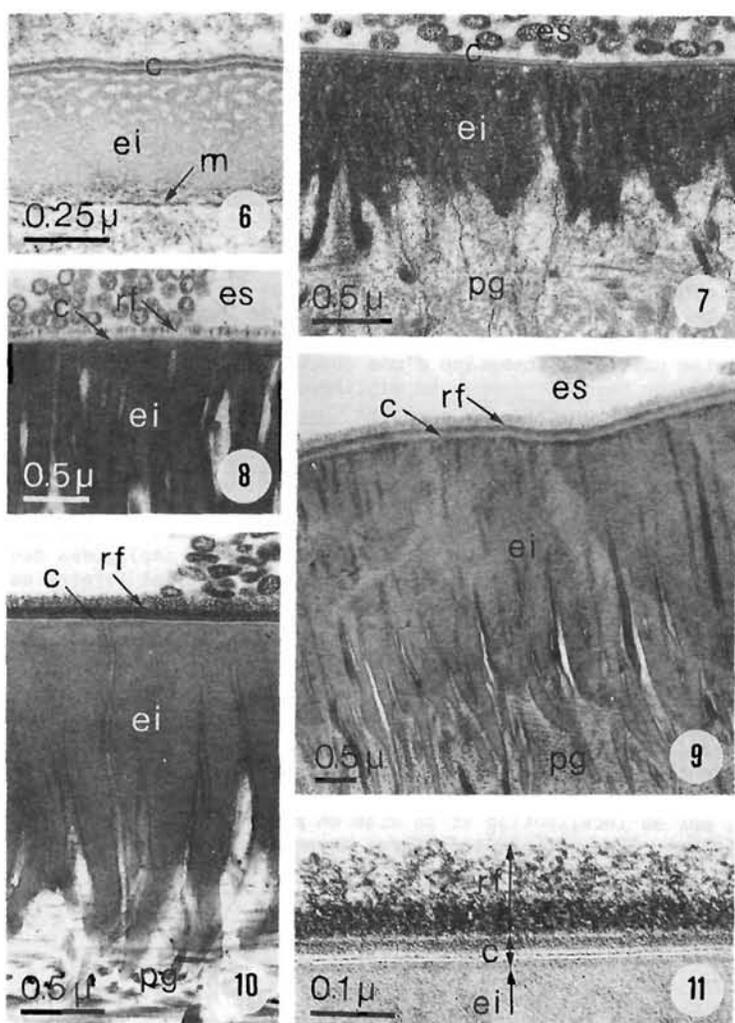


Fig.6. Barbule d'une soie au stade Di III montrant la mise en place de l'épicuticule interne (ei) au contact direct de la cuticuline (c).m, membrane plasmique. Figs. 7 à 10. Lames branchiostèges au début du stade D2 (7), au stade D2 moyen (8) en fin de période préecdysiale (9) et en intermue (10). c, cuticuline; ei, épicuticule interne; es, espace ecdysial; pg, couche pigmentaire; rf, recouvrement fibreux superficiel. Fig.11. Lame branchiostège en intermue. Détail de la cuticuline (c) partiellement intégrée au recouvrement fibreux superficiel (rf) et à l'épicuticule interne (ei).

## DISCUSSION

Nos observations montrent que l'épicuticule des sclérites du crabe Carcinus maenas comprend trois couches distinctes : le recouvrement fibreux superficiel, la cuticuline et l'épicuticuline interne. Les deux premières forment l'épicuticule externe. Ce schéma structural fondamental est généralement d'application à l'épicuticule associée à d'autres régions tégumentaires non minéralisées telles que les membranes articulaires et les branchies (Compère et Goffinet, 1987a). De plus, il correspond parfaitement à celui proposé par Kümmel et al. (1970) chez l'écrevisse Orconectes limosus.

Comme chez Insectes (Locke, 1966, 1976; Filshie et Waterhouse, 1969; Delachambre, 1970; Filshie, 1970, 1982; Gnatzy et Romer, 1984) et les Arachnides (Filshie, 1976), la cuticuline est la première couche cuticulaire mise en place en début de période préecdysiale. Plusieurs arguments plaident en faveur d'une homologie entre la cuticuline des Crustacés et celles des Insectes. En effet, dans les deux groupes, elle est mise en place sous la forme de courts segments grâce à l'intervention directe de plaques denses de l'apex des cellules ectodermiques. La fusion de ces segments, par croissance latérale de chacun d'eux, aboutit d'autre part à la formation d'une couche continue d'apparence pentamellaire. Celle de Carcinus maenas se distingue cependant par son épaisseur, 37 nm au lieu de 17.5 nm chez les Insectes Calpodes ethlius (Locke, 1966) et Tenebrio molitor (Delachambre 1970), 8.5 nm chez Negaria viridula (Filshie et Waterhouse, 1969), 10 à 12 nm chez Lucilia cuprina (Filshie, 1970) et 16 nm chez l'acarien Boophilus microplus (Filshie, 1976). De plus, contrairement à celle des Insectes, elle ne semble subir aucune modification structurale importante depuis sa formation jusque et y compris le stade d'intermue. Il n'est pas de même au niveau des cuticules perméables impliquées dans des échanges ioniques et/ou respiratoires (branchies et feuillet interne de la lame branchiostège) où des remaniements secondaires conduisent à la disparition d'une ou plusieurs de ses strates (Compère et Goffinet, 1987a; Compère, résultats non publiés).

Au cours d'une seconde étape, l'épicuticule interne est sécrétée au contact immédiat de la cuticuline. Son mode de formation, sans l'intervention de plaques denses, suggère qu'elle est homologue de celle des Insectes ou "protein epicuticle" décrite par Locke (1969) chez Calpodes ethlius.

Enfin, par sa localisation et sa mise en place tardive après la formation de la cuticuline, il est tentant de faire correspondre le recouvrement fibreux

superficiel de la cuticule des Crustacés avec la couche de cire des Insectes. Tous deux seraient en outre mis en place par l'intermédiaire des canalicules épicuticulaires. En effet, chez les Crustacés (Jeuniaux et al., 1986) comme chez les Insectes (Locke et Krishnan, 1971; Delachambre, 1971) des composés argentaffines ont été mis en évidence au niveau de canalicules épicuticulaires ainsi qu'à la face externe de la cuticoline peu avant l'exuviation. Nos connaissances sont toutefois insuffisantes pour appuyer une telle hypothèse. De plus, contrairement au recouvrement superficiel déposé durant la seconde moitié de la période préecdysiale, la couche de cire des Insectes est le plus souvent sécrétée après l'exuviation.

En conclusion, cette étude permet non seulement de confirmer le caractère universel, admis par de nombreux auteurs, de la cuticoline au sein des Arthropodes, mais encore de proposer son homologie, du moins chez les Insectes et les Crustacés, sur la base d'une argumentation ultrastructurale et morphogénétique. Des hypothèses quant à l'analogie ou la correspondance d'autres strates épicuticulaires entre ces deux groupes ont également pu être formulées.

- 
- ANGER K., 1983. Moulting cycle and morphogenesis in Hyas araneus larvae (Decapoda, Majidae), reared in the laboratory. Helgoländer Meeresuntersuchungen, 36, 285-302.
- CHRISTIANSEN M.E. et COSTLOW T.D., 1982. Ultrastructural study of the estuarine crab Rhithropanopeus harrisi : Effect of the insect growth regulator dimilin (diflubenzuron) on the formation of the larval cuticle. Mar.Biol., 66, 217-266.
- COMPÈRE Ph. et GOFFINET G., 1987a. Aspects ultrastructuraux et fonctionnels de diverses régions cuticulaires non minéralisées d'un crustacé décapode, Carcinus maenas. Annls. Soc.R.Zool.de Belgique, 117 (2), 177-191.
- COMPÈRE Ph. et GOFFINET G., 1987b. Ultrastructural shape and three dimensional organization of the intracuticular canal systems in the mineralized cuticle of the green crab, Carcinus maenas. Tissue & Cell, sous presse.
- COMPÈRE Ph. et GOFFINET G., 1987c. Elaboration and ultrastructural changes of the pore system in the mineralized cuticle of Carcinus maenas during the molting cycle. Tissue & Cell, sous presse.
- DELACHAMBRE J., 1970. Étude de l'épicuticule des Insectes. I. Le développement de l'épicuticule chez l'adulte de Ienebrio molitor. Z. Zellforsch.microsk. Anat., 108, 380-396.
- DELACHAMBRE J., 1971. La formation des canaux cuticulaires chez l'adulte de Ienebrio molitor. Étude ultrastructurale et remarques histochimiques. Tissue & Cell, 3 (3), 499-520.
- DRACH P. et TCHERNIGOVITZEFF C., 1967. Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux Crustacés. Vie et Milieu, Série A, Biol.Mar., 18, 595-609.
- FILSHIE B.K., 1970. The fine structure and deposition of the larval cuticle of the sheep blowfly (Lucilia cuprina). Tissue & Cell, 2 (3), 479-498.
- FILSHIE B.K., 1976. The structure and deposition of the epicuticle of the adult female cattle tick (Boophilus microplus). In : The Insect Integument, édité par H.R.Hopburn, Elsevier, Amsterdam, 193-206.
- FILSHIE B.K., 1982. Fine structure of the cuticle of Insects and others Arthropods. In : Insect Ultrastructure, vol.I, édité par R.C.King et H.Akai, Plenum Press, New-York London, 281-312.

- FILSHIE B.K. et WATERHOUSE D.F., 1969. The structure and development of a surface pattern on the cuticle of the green vegetable bug Nezara viridula. Tissue & Cell, 1(2), 367-385.
- GNATZY W. et ROMER F., 1984. Arthropods : Cuticle : Formation, Moulting and Control. In : Biology of the Integument, 1. Invertebrates, édité par J.Bereiter-Hahn, A.G. Matoltsy et K.S.Richards, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 638-684.
- GREEN J.P. et NEFF M.R., 1972. A survey of the fine structure of the integument of the fiddler crab Uca pugilator. Tissue & Cell, 4 (1), 137-171.
- JEUNIAUX Ch., COMPERE Ph. et GOFFINET G., 1986. Structure, synthèse et dégradation des chitinoprotéines de la cuticule des Crustacés décapodes. Boll.Zool., 53, 183-196.
- KÜMMEL G., CLAASSEN H. et KELLER R., 1970. Zur Feinstruktur von Cuticula und Epidermis beim Flusskrebs Orconectes limosus während eines Häutungszyklus. Z.Zellforsch.mikrosk.Anat., 109, 517-551.
- LOCKE M., 1966. The structure and formation of the cuticulin layer in the epicuticle of an insect, Calpodes ethlius (Lepidoptera, HesperIIDae). 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, édité par H.R.Hepburn, Elsevier, Amsterdam, 237-258.
- LOCKE M. et KRISHNAN N., 1971. The distribution of phenoloxydases and polyphenols during cuticle formation. Tissue & Cell, 3 (1), 103-126.
- VILLOTTE O., 1982. Recherches sur la biologie et l'élevage de la cigale de mer Scyllarus arctus (L., 1758) Crustacea, Decapoda, Scyllaridae). Thèse Doct.Sci., Univ.Sci. & Techn. Languedoc, Montpellier.