

ÉTUDE COMPARÉE DE LA COUCHE PRINCIPALE
ET DE LA COUCHE MEMBRANEUSE DE LA CUTICULE
CHEZ SIX ESPÈCES DE CRUSTACÉS DÉCAPODES

par

Marie-Françoise VOSS-FOUCART et Charles JEUNIAUX

Université de Liège, Institut Ed. Van Beneden
Laboratoires de Morphologie, Systématique et Ecologie animales
quai Van Beneden, 22, B-4020 Liège (Belgique)

Manuscrit reçu le 21 octobre 1977

RÉSUMÉ

L'importance pondérale relative et la composition chimique de la couche membraneuse et de la couche principale de la cuticule en période d'intermue (C₄) ont été étudiées chez six espèces de Crustacés Décapodes : *Homarus vulgaris*, *Nephrops norvegicus*, *Polycheles typhlops*, *Scyllarus arctus*, *Callinassa subterranea* et *Xantho floridus*.

Le développement relatif de la couche membraneuse varie considérablement d'une espèce à l'autre : elle représente environ 20 % du poids de la cuticule chez *P. typhlops*, et 0,63 % seulement chez *X. floridus*. Ces différences, de même que les variations du taux de calcification de la couche principale, peuvent expliquer certains caractères physiques de la carapace, et ne semblent pas en rapport avec la position systématique.

Chez le Homard, *Homarus vulgaris*, la composition en acides aminés des protéines de la couche membraneuse diffère peu de celle de la couche principale. Chez cette même espèce, différentes fractions protéiques ont été isolées des deux principales strates cuticulaires ; l'analyse de leur composition en acides aminés ne montre que des différences mineures.

La composition en acides aminés des protéines cuticulaires est relativement constante chez les six espèces étudiées. Les proportions relatives de glycine, d'acide glutamique et d'alanine permettent néanmoins d'opposer les deux espèces de Palinoures (*Polycheles typhlops* et *Scyllarus arctus*) aux autres Décapodes.

Enfin, au moyen d'une méthode enzymatique spécifique de la chitine, nous avons confirmé la nature chitineuse du résidu organique obtenu après traitement de la couche principale par NaOH 0.5 N à 100 °C.

SUMMARY

The relative development and the chemical composition of the membranous layer and the principal layer of the intermoult (C_4) cuticle has been studied in six species of Decapoda : *Homarus vulgaris*, *Nephrops norvegicus*, *Polycheles typhlops*, *Scyllarus arctus*, *Callinassa subterranea* and *Xantho floridus*.

The dry weight of the membranous layer with respect to the total weight of the cuticle greatly varies from one species to another (from 20 mg p. 100 mg in *P. typhlops* to 0.63 mg p. 100 mg in *X. floridus*). These differences, as well as variations in the degree of calcification, could explain some physical peculiarities of the carapace, but do not seem to be related to the taxonomic position.

In *Homarus vulgaris*, the amino-acid composition of the membranous layer proteins did not differ from that of the principal layer ones. In the same species, different protein fractions were isolated from both layers ; their amino-acid composition exhibited only minor differences.

The amino-acid composition of the cuticular proteins was relatively constant in the six species so far studied. Taking into account the proportions of glycine, glutamic acid and alanine with respect to the sum of the amino-acids, the two species of Palinura (*Polycheles typhlops* and *Scyllarus arctus*) differ however from the other Decapoda.

Using a specific enzymatic method, it has been confirmed that the organic residue after treatment of the principal layer with hot alkali is almost entirely made of chitin.

INTRODUCTION

L'étude de la composition chimique de la cuticule des Crustacés a progressé beaucoup moins vite que celle de la cuticule des Insectes. Les données dont on dispose, notamment sur la composante protéique cuticulaire des Crustacés, concernent soit des exuvies (STEVENSON, 1969), soit des cuticules prises globalement (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1954 ; DEGENS et al., 1967 ; KRISHNAM, 1969 ; FOX, 1973 ; HACKMAN, 1974 ; WELINDER, 1974). L'analyse séparée des couches cuticulaires a rarement été réalisée, et on ne possède que peu d'informations sur les caractères propres aux différentes strates. L'un de nous (JEUNIAUX, 1963) a séparé et analysé la couche membraneuse de *Cancer pagurus* :

l'application d'une méthode enzymatique spécifique de la chitine (JEUNIAUX, 1963, 1965) a permis de montrer que cette couche est constituée essentiellement par de la chitine (plus de 75 %), à laquelle sont associées des protéines, pour former notamment un complexe glycoprotéique aux propriétés hygroscopiques (JEUNIAUX, 1959).

En hommage au Professeur P. DRACH, pionnier de l'étude du tégument et de la mue des Crustacés, nous présentons les résultats d'une étude comparée de la composition de la couche membraneuse et de la couche principale de 6 espèces de Crustacés Décapodes (*Homarus vulgaris*, *Nephrops norvegicus*, *Polycheles typhlops*, *Scyllarus arctus*, *Callinassa subterranea*, et *Xantho floridus*), choisis en raison de l'éventail de leur position systématique et de la consistance très différente de leurs téguments, qui va de la carapace mince et cassante de *Polycheles typhlops* à celle, dure et épaisse, de *Xantho floridus*.

MATÉRIAUX ÉTUDIÉS ET MÉTHODES

Les homards (*Homarus vulgaris*) ont été achetés sur le marché public (origine non précisée). Les *Nephrops norvegicus* et les *Xantho floridus* proviennent de Roscoff, les *Scyllarus arctus* de Villefranche et les *Callinassa subterranea* des Iles Chausey. Les *Polycheles typhlops*, originaires soit de Banyuls soit des Iles Baléares, nous ont aimablement été fournis par Monsieur MIZOUL que nous remercions vivement. Tous les exemplaires étudiés étaient au stade C4 de leur cycle de mue (DRACH, 1939). Ils ont été conservés en alcool 70°.

Les échantillons de cuticule ont été prélevés au niveau du notum du bouclier céphalothoracique, ou, dans certains cas, au niveau des pinces. Les couches membraneuse et principale ont été minutieusement séparées sous le contrôle de la loupe binoculaire. Le poids sec de ces échantillons a été déterminé après dessiccation sous vide en présence d'un déshydratant pendant 24 heures.

Nous avons mesuré la proportion de sels acido-solubles de chaque échantillon par décalcification dans HCl 0.5 N suivie de lavages à l'eau distillée, dessiccation et pesée. La quantité de sels minéraux

acido-solubles a été calculée par différence entre les poids de cuticule avant et après décalcification, et exprimée en % du poids sec initial.

Nous avons caractérisé la composante protéique de chaque couche cuticulaire, par dosage des acides aminés libérés par hydrolyse acide (HCl 6 N à reflux pendant 24 heures à 110 °C) à l'aide d'un analyseur Beckman Spinco équipé d'une colonne unique. Des essais de fractionnement des protéines cuticulaires ont été réalisés en traitant un même échantillon par HCl 0.5 N à 20 °C, d'une part, par un tampon borate à pH 9.2 et à 56 °C suivant la méthode de TRIM (1941), d'autre part.

Nous avons dosé la chitine par une méthode enzymatique (JEUNIAUX, 1963, 1965), au moyen de chitinase purifiée de *Streptomyces antibioticus* (concentration : 400 unités néphélométriques par ml). Après hydrolyse du chitobiose formé par une solution de chitobiase (sérum de homard dilué 10 fois), l'acétylglucosamine libérée a été dosée par la méthode de REISSIG *et al* (1955).

RÉSULTATS

1. Importance relative comparée de la couche membraneuse.

L'examen de coupes microscopiques de cuticules de diverses espèces révèle des différences importantes dans l'épaisseur de la couche membraneuse. Nous avons cherché à préciser l'importance pondérale de la couche membraneuse par rapport à la cuticule totale (tableau I).

L'ensemble des données du tableau I montre d'une part que l'importance pondérale relative de la couche membraneuse varie considérablement d'une espèce à l'autre. En ce qui concerne le bouclier céphalothoracique, les valeurs s'échelonnent entre 0,63 % chez *Xantho floridus* et 22,10 % chez *Polycheles typhlops*. D'autre part, si les chiffres obtenus sont très concordants pour deux échantillons prélevés symétriquement sur un même spécimen (voir les trois séries de valeurs pour *Homarus vulgaris*), il existe des variations plus sensibles entre spécimens différents d'une même espèce, dans les quatre cas étudiés.

Enfin, le tableau I montre que la couche membraneuse présente un développement moindre au niveau de la pince qu'au niveau du céphalothorax, chez les deux espèces envisagées à ce point de vue.

TABLEAU I
Importance pondérale relative de la couche membraneuse
(poids sec en mg p. 100 mg de cuticule totale).

Espèce	Individu n°	Bouclier céphalothoracique	Pince	
			Partie dorsale	Partie ventrale
<i>Homarus vulgaris</i>	A	8.07-8.47 (1)	7.5	4.5
	B	12.53-11.15 (1)		
	C	10.44-10.95 (1)		
<i>Nephrops norvegicus</i>	A	16.7		
	B	12.8		
	C	15.3		
<i>Polychelis typhlops</i>	A	20.92		
	B	22.10		
	C	21.10		
	D	19.80		
<i>Scyllarus arctus</i>	A	3.7 (2)		
	B	5.96		
	C	5.70		
<i>Callinassa subterranea</i>	A	19.4	2.3	2.0
<i>Xantho floridus</i>	A	0.63		

(1) Echantillons prélevés symétriquement.

(2) Spécimen tué dans l'eau bouillante. On ne peut exclure la possibilité d'une altération.

2. Variation du degré de calcification des couches principales.

La fragilité particulière de la cuticule de certaines espèces nous a conduit à rechercher si le degré de calcification était sujet à des variations importantes. Le tableau II donne le pourcentage de sels minéraux acido-solubles dans les couches principales de la cuticule thoracique des six espèces étudiées, et dans celles de la pince de trois d'entre elles. L'examen de ce tableau permet les constatations suivantes :

a. Les valeurs obtenues pour deux échantillons prélevés symétriquement sur un même spécimen sont très concordantes (voir les trois séries de valeurs pour *Homarus vulgaris*).

b. Les pourcentages établis pour des échantillons semblables prélevés sur des spécimens différents varient légèrement.

c. Le degré de calcification des pinces ne correspond pas nécessairement à celui du bouclier céphalothoracique : chez *Callinassa* notamment, la cuticule des pinces est plus calcifiée que celle du céphalothorax. Enfin, dans le cas du Homard, la partie ventrale de la pince semble plus calcifiée que la partie dorsale.

3. Composition en acides aminés de la composante protéique globale de la couche membraneuse et de la couche principale de *Homarus vulgaris*.

Pour certains auteurs, la couche membraneuse ne serait qu'une différenciation non calcifiée de la partie la plus interne de la procuticule. Afin de tester cette hypothèse, nous avons comparé la composition globale en acides aminés des protéines de la couche membraneuse à celle des protéines de la couche principale. Les analyses ont

TABLEAU II

Proportion de sels acido-solubles dans les couches principales des cuticules de 6 espèces de Crustacés Décapodes (différence entre le poids d'un échantillon avant et après décalcification totale par HCl 0.5 N ; valeurs exprimées en % du poids initial de l'échantillon de cuticule).

Espèce	Individu n°	Bouclier céphalothoracique	Pince	
			Partie dorsale	Partie ventrale
<i>Homarus vulgaris</i>	A	79.5-80.1	71.2	78.1
	B	78.3-78.7		
	C	81.0-80.9		
<i>Nephrops norvegicus</i>	A	78.1		
	B	78.8		
	C	80.1		
<i>Polychaetes typhlops</i>	A	77.1		
	B	77.8		
	C	72.4		
	D	73.3		
<i>Scyllarus arctus</i>	A	77.7-80.5		
	B	80.7		
	C	79.0		
<i>Callinassa subterranea</i>	—	80.6	91.3	90.9
<i>Xantho floridus</i>	—	91.2	91.0	91.5

porté sur des fragments de bouclier céphalothoracique de 3 spécimens de *Homarus vulgaris*.

Les valeurs, correspondant au pourcentage molaire de chaque acide aminé, sont présentées dans la figure 1. La hauteur des rectangles donne une idée de la dispersion des résultats individuels.

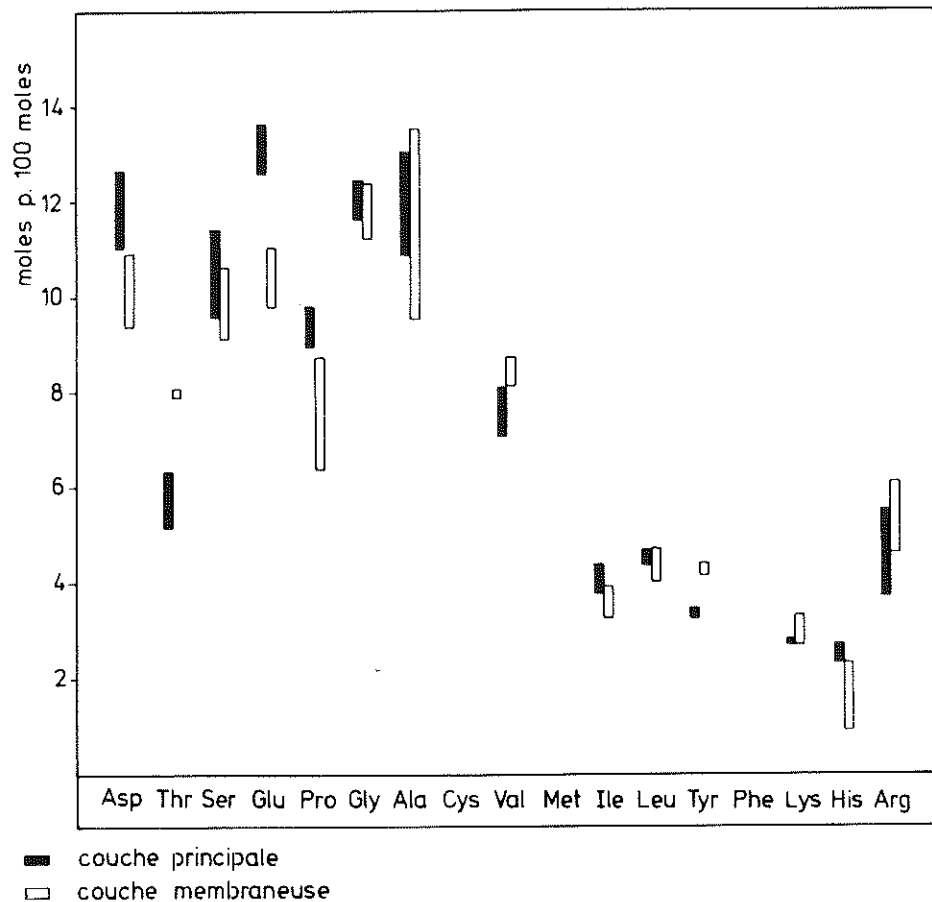


FIG. 1. — *Homarus vulgaris* — Céphalothorax.

Composition en acides aminés (exprimée en pourcentages molaires) de la composante protéique globale de la couche membraneuse et de la couche principale décalcifiée de *Homarus vulgaris*.

On voit qu'il y a peu de différences entre la composition des protéines des deux strates cuticulaires étudiées. On constate toutefois que les proportions d'acide aspartique, d'acide glutamique et de pro-

line semblent plus faibles dans les couches membraneuses, et que la proportion de thréonine y est plus élevée.

4. Essais de fractionnement des protéines cuticulaires.

Nous avons cherché à fractionner la composante protéique cuticulaire du céphalothorax de *Homarus vulgaris*. Trois fractions ont été

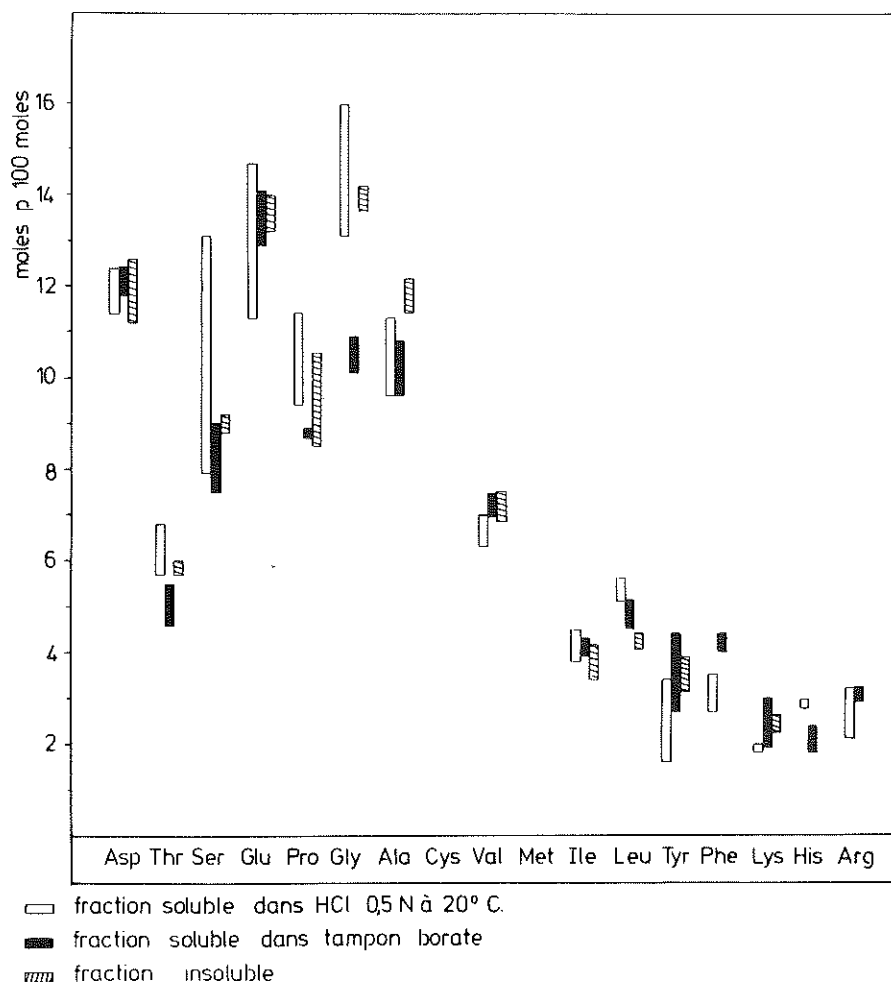


FIG. 2. — *Homarus vulgaris* — Céphalothorax.
Composition en acides aminés (exprimée en pourcentages molaires) des protéines contenues dans différentes fractions isolées à partir de la couche principale.

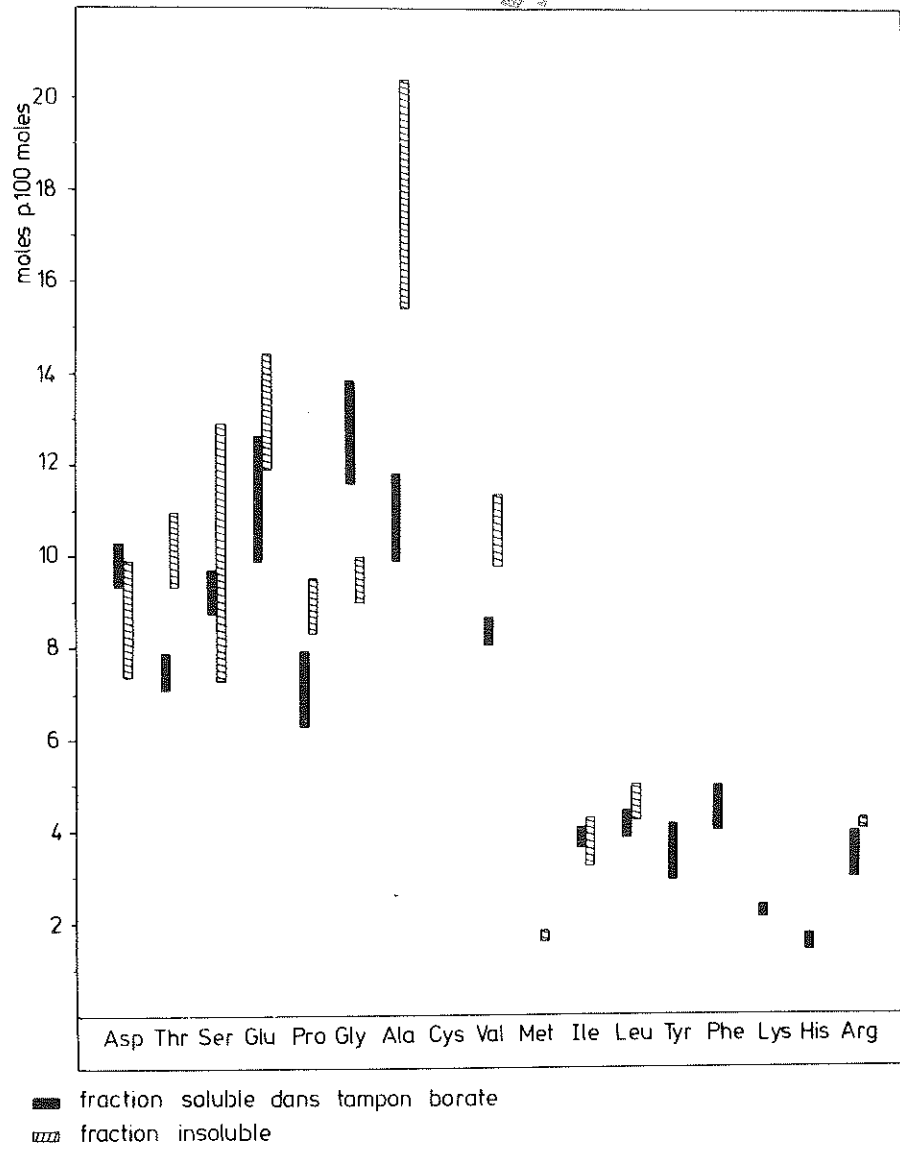


FIG. 3. — *Homarus vulgaris* — Céphalothorax.
Composition en acides aminés (exprimée en pourcentages molaires) des protéines contenues dans différentes fractions isolées à partir de la couche membraneuse.

isolées de la couche principale ; une fraction soluble dans HCl 0.5 N, une fraction soluble dans le tampon borate de Trim, une fraction insoluble dans ce même tampon. Deux fractions (soluble et insoluble dans

le tampon borate de Trim) ont été isolées de la couche membraneuse. Les figures 2 et 3 comparent la composition en acides aminés de ces différentes fractions.

On constate que les fractions isolées de la couche principale (fig. 2) sont très semblables et ne diffèrent pas sensiblement de la composante protéique globale de cette même couche (fig. 1).

En ce qui concerne la couche membraneuse (fig. 3), les écarts entre les différentes fractions sont un peu plus marqués : la fraction protéique insoluble dans le tampon borate se caractérise notamment par une teneur en alanine nettement plus élevée, et par la très faible teneur en tyrosine, phénylalanine, lysine et histidine.

5. Etude comparée de la composante protéique globale de la couche principale et de la couche membraneuse chez 6 espèces de Crustacés Décapodes.

a) Couche principale.

Nous avons rassemblé dans le tableau III les compositions en acides aminés des protéines de la couche principale de 6 espèces. Dans trois cas, les protéines cuticulaires du céphalothorax et des pinces ont été analysées. Remarquons immédiatement que la composition des protéines de ces 2 types de cuticules est très semblable pour une espèce donnée.

Si nous comparons les différentes espèces entre elles, nous constatons que les deux espèces de Palinoures (*Polycheles typhlops* et *Scyllarus arctus*) paraissent différer des autres Décapodes étudiés par une proportion nettement plus élevée de la glycine, ainsi que par des teneurs légèrement plus faibles en acide glutamique et en alanine. Pour le reste, la composition en acides aminés montre peu de variations d'une espèce à l'autre.

La teneur totale en protéines de la couche principale, exprimée par la somme des valeurs individuelles de chaque résidu d'acide aminé, varie selon l'espèce considérée, avec un minimum de 7,13 % pour la pince de *Xantho floridus* (partie ventrale) et un maximum de 18,05 % pour le céphalothorax d'un spécimen de *Homarus vulgaris*.

TABLEAU III

Composition en acides aminés des protéines cuticulaires de la couche principale après décalcification par HCl 0,5 N (la proportion de chaque acide aminé est exprimée en moles pour 100 moles) (tr = traces ; + = quantité non négligeable, mais non dosable).

Acides aminés	<i>Homarus vulgaris</i>		<i>Nephrops norvegicus</i>	<i>Polycheles typhlops</i>	<i>Scyllarus arctus</i>	<i>Callinassa subterranea</i>		<i>Xantho floridus</i>	
	ct (1)(4)	p (2)	ct (1)	ct (1)	ct (1)	ct (1)	p (2)	ct (1)	p (3)
Asp	11.0-12.65	10.6	11.47	11.91	10.56	12.65	11.95	11.89	11.76
Thr	5.14-6.31	6.35	5.79	6.20	7.48	5.91	6.77	5.36	5.43
Ser	9.54-11.14	8.84	11.90	9.90	10.39	9.11	6.58	8.09	6.48
Glu	12.54-13.58	11.26	12.30	10.64	9.90	13.85	12.54	13.56	12.66
Pro	8.94-9.74	9.38	9.12	8.41	7.03	6.45	7.53	8.74	7.14
Gly	11.58-12.41	11.75	15.35	19.8	23.03	14.01	11.99	11.02	11.03
Ala	10.84-12.97	11.33	9.43	8.89	8.17	10.92	13.47	11.37	10.77
Cys	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.85
Val	7.07-8.05	7.71	7.31	6.55	6.77	7.42	9.53	8.27	8.29
Met	0.44	0.65	+	+	+	+	+	tr	1.25
Ileu	3.77-4.33	3.63	3.89	3.59	3.13	3.25	4.64	3.47	4.70
Leu	4.36-4.64	5.08	4.34	4.34	3.44	4.90	5.74	5.2	6.78
Tyr	3.27-3.46	2.93	4.47	3.09	2.65	2.50	2.03	2.97	2.98
Phé	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lys	2.74-2.82	2.66	+	1.63	2.65	2.73	3.24	3.59	3.60
His	2.36-2.68	2.76	+	1.48	0.88	2.07	0.64	1.59	2.02
Arg	3.72-5.49	4.97	4.59	4.11	3.86	4.16	3.29	4.82	4.14
Protéines (5) mg/100 mg de couche principale	8.94-18.05	10.36	14.32	12.42	11.42	11.82	10.62	7.99	7.13

(1) Bouclier céphalothoracique.

(2) pince : région dorsale.

(3) pince : région ventrale.

(4) Dispersion des valeurs pour 3 individus différents.

(5) Somme des valeurs individuelles de chaque résidu d'acide-aminé, en mg pour 100 mg de couche principale (poids sec).

b) Couche membraneuse.

Le tableau IV rassemble les valeurs de la composition en acides aminés des couches membraneuses des 6 mêmes espèces. Comme dans le cas des couches principales, on ne constate pas de différences notables entre la pince et le bouclier céphalothoracique. D'autre part, si on tient compte du fait que les acides aminés n'ont pas pu être tous dosés dans le cas de *Nephrops*, de *Polycheles* et de *Scyllarus*, les compositions en acides aminés des couches membraneuses des 6 espèces ne montrent pas de différences marquées.

En ce qui concerne l'importance pondérale relative de la fraction protéique, les variations sont par contre considérables. La fraction protéique globale de la couche membraneuse, exprimée par la somme

des valeurs individuelles de chaque résidu d'acide aminé, représentée de 1 à 30 % du poids de cette couche selon l'espèce.

TABLEAU IV
Composition en acides aminés des protéines cuticulaires de la couche membraneuse (la proportion de chaque acide aminé est exprimée en moles/100 moles)
(+ = quantité non négligeable, mais non dosable).

Acides aminés	<i>Homarus vulgaris</i>		<i>Nephrops norvegicus</i>	<i>Polychaetes typhlops</i>	<i>Scyllarus arctus</i>	<i>Callinassa subterranea</i>		<i>Xantho floridus</i>
	ct (1)(3)	p (2)	ct (1)	ct (1)	ct (1)	ct (1)	p (2)	ct (1)
Asp	9.34-10.92	8.94	16.90	13.78	15.32	14.60	11.75	15.17
Thr	7.97-8.06	7.69	8.47	10.39	8.79	6.10	6.26	6.71
Ser	9.10-10.64	8.87	13.62	12.93	13.19	7.48	6.69	8.54
Gly	9.73-11.01	10.83	13.76	11.85	16.08	11.55	12.95	14.86
Pro	6.35-8.73	9.49	7.25	+	+	5.10	7.10	6.38
Gly	11-21-12.31	10.03	15.54	15.11	17.83	9.09	12.73	14.99
Ala	9-54-13.51	14.53	11.84	12.93	13.19	7.64	10.94	8.80
Cys								
Val	8.11-8.67	7.56	7.86	7.61	6.9	6.49	7.42	6.54
Met			+	+	+	0.75	+	+
Ileu	3.26-3.85	3.01	4.72	7.98	4.14	4.53	4.28	3.83
Leu	4.00-4.62	3.96	+	7.37	4.52	7.69	6.33	5.57
Tyr	4.18-4.31	3.72	+	+	+	3.24	+	+
Phé		+	+	+	+	+	+	+
Lys	2.73-3.29	2.73	+	+	+	5.67	5.22	4.21
His	0.96-2.28	2.97	+	+	+	5.10	2.78	+
Arg	4.65-6.03	5.58	+	+	+	4.89	5.49	4.34
Protéines, mg/100 mg de couche principale	10.36-13.71	11.75	2.33	1.82	1.06	27.84	29.33	5.69

(1) ct = bouclier céphalothoracique.

(2) p = pince.

(3) Dispersion des valeurs pour 3 individus différents.

6. Nature chitineuse du résidu organique après traitement par NaOH de la couche principale décalcifiée.

La plupart des auteurs ont mesuré la proportion de chitine dans les cuticules de Crustacés en pesant le résidu sec, après décalcification et traitement par des solutions alcalines à 100 °C. Afin de vérifier si tout le résidu organique ainsi obtenu correspond effectivement à de la chitine, nous y avons dosé la chitine par une méthode enzymatique hautement spécifique (JEUNIAUX, 1963, 1965).

Des échantillons de couche principale du céphalothorax et/ou de la pince de *Xantho floridus* et de *Callinassa subterranea* ont été décalcifiés par HCl 0.5 N, lavés, puis traités pendant 6 heures par

une solution de NaOH 0.5 N à 100 °C. Les résidus, lavés, ont été incubés à 37 °C pendant 8 heures dans une solution tamponnée (pH 5.2) de chitinases purifiées. Après lavage dans une solution de tampon frais, la fraction non hydrolysée a été traitée à nouveau par les chitinases purifiées. Ces traitements enzymatiques ont été renouvelés (en tout 4 incubations enzymatiques et 4 lavages) jusqu'à dégradation totale de la chitine. Les solutions enzymatiques et les solutions de lavage ont été recueillies, mesurées et incubées à 37 °C pendant 2 heures après addition de chitobiase, pour permettre le dosage des produits d'hydrolyse de la chitine sous forme de N-acétylglucosamine. La somme des valeurs individuelles des solutions récoltées, affectées du facteur de correction 0.92 (rapport du poids moléculaire d'un résidu de N-acétylglucosamine dans la molécule de chitine au poids moléculaire de la N-acétylglucosamine) donne la quantité totale de chitine contenue dans l'échantillon de départ.

La proportion de chitine, en mg pour 100 mg de couche principale décalcifiée (poids sec), établie à partir de ces valeurs, s'élève respectivement à 66,94 mg pour le bouclier céphalothoracique de *Xantho floridus*, à 63,76 mg pour la pince de la même espèce, et à 53,46 mg pour le bouclier céphalothoracique de *Callinassa subterranea*.

Ces valeurs sont voisines de celles obtenues par DRACH et LAFON (1943), sur des Xanthidés, par pesée du résidu sec après décalcification et traitement par KOH 10 % à 100 °C.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

En séparant la couche membraneuse de la couche principale, et en mesurant le poids respectif de ces deux strates, on constate que l'importance relative de la couche principale est à peu près constante pour une région donnée, chez une même espèce. Par contre, le développement de la couche membraneuse varie suivant les régions de l'exosquelette envisagées. D'espèce à espèce, pour une même région, les différences peuvent être considérables. C'est chez *Xantho floridus*,

dont la cuticule est très dure, que la couche membraneuse est le moins importante. Au contraire, chez *Polycheles typhlops*, dont le tégument est fragile et cassant, la couche membraneuse est particulièrement développée et représente 20 % du poids total de la cuticule au niveau du céphalothorax.

Nos mesures du degré de calcification des cuticules confirment les données de DRACH et LAFON (1942), de CHAISEMARTIN (1963) et de DEGENS *et al* (1967), à savoir qu'il n'existe pas un taux de minéralisation uniforme pour toutes les parties calcifiées du squelette d'une espèce donnée. Chaque région de l'exosquelette présente un taux de calcification propre.

Le taux de minéralisation, pour une région de la carapace, est assez constant et se situe aux alentours de 80 % du poids de la couche principale de la cuticule, chez *Homarus vulgaris*, *Nephrops norvegicus*, *Scyllarus arctus* et *Callinassa subterranea*. Par contre, la couche principale de *Polycheles typhlops* est légèrement moins calcifiée, tandis que celle de *Xantho floridus* est nettement plus minéralisée.

Il est intéressant de mettre en parallèle le degré de calcification de la couche principale et le développement de la couche membraneuse. La faible épaisseur de la couche calcifiée jointe à son taux de minéralisation plus faible, et le développement important de la couche membraneuse de *Polycheles typhlops* peuvent expliquer, au moins partiellement, la fragilité particulière de la cuticule de cette espèce. La cuticule particulièrement dure de *Xantho floridus*, au contraire, se caractérise par l'épaisseur de la couche principale, par son taux de calcification élevé et par le développement très faible de la couche membraneuse.

L'étude comparée de la composante protéique globale de la couche membraneuse et de la couche principale de *Homarus vulgaris* ne révèle pas de différences sensibles dans la composition en acides aminés, si ce n'est peut-être dans les proportions relatives de l'acide glutamique, de l'alanine et de la glycine. Des essais de fractionnement des protéines cuticulaires ont permis d'isoler plusieurs fractions, mais leurs compositions en acides aminés sont très voisines. Ces résultats concordent avec ceux de HACKMAN (1974) sur *Scylla serrata*.

La bonne reproductibilité des résultats obtenus chez *Homarus*

vulgaris, et la similitude de composition en acides aminés des diverses fractions protéiques isolées, nous ont conduit à rechercher d'éventuelles différences entre 6 espèces de Crustacés Décapodes au niveau de la composition en acides aminés de la composante protéique globale de la couche principale et de la couche membraneuse. Les 6 espèces choisies diffèrent par leur position systématique, mais aussi par les caractères physiques de leur cuticule (dureté, résistance, épaisseur).

La composition en acides aminés des protéines cuticulaires montre peu de différences. Les deux espèces de Macroures Palinoures (*Polychaetes typhlops* et *Scyllarus arctus*) semblent différer des autres Décapodes par les proportions relatives de la glycine, de l'acide glutamique et de l'alanine. La mise en évidence d'autres caractères biochimiques systématiques au niveau des protéines cuticulaires exigerait vraisemblablement l'identification des séquences d'acides aminés.

Du point de vue quantitatif, la fraction protéique représente généralement 7 à 14 % de la couche principale décalcifiée. L'importance de la fraction protéique est beaucoup plus variable au niveau des couches membraneuses.

Enfin, nous avons vérifié que le résidu organique résistant au traitement par la soude ou la potasse 0.5 N à 100 °C est constitué presque entièrement par de la chitine ; celle-ci a en effet été identifiée et dosée par une méthode enzymatique spécifique.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les Stations biologiques de Banyuls et de Roscoff, qui nous ont fourni ou permis de récolter une partie du matériel étudié.

Nous tenons à remercier Mesdemoiselles Dominique BRUMIOUL, Nadine JÉROME et Claudine TOUSSAINT pour leur participation à la réalisation de ce travail.

Notre vive gratitude s'adresse aux Professeurs E. SCHOFFENIELS et W. VERLY, qui ont mis à notre disposition leur équipement de chromatographie sur colonne, et à Mme S. BRICTEUX-GRÉGOIRE, pour son aide précieuse et ses judicieux conseils.

BIBLIOGRAPHIE

1962. CHAISEMARTIN (C.). — Topographie de la calcification de l'exosquelette chez *Astacus pallipes* Lereboullet. Ses variations avec les étapes de la croissance. *Vie et Milieu*, 13, 747-766.
1967. DEGENS (E.T.), CAREY (F.G.) and SPENCER (D.W.). — Amino-acids and amino-sugars in calcified tissues of Portunid crabs, *Nature*, London, 216, 601-603.
1942. DRACH (P.) et LAFON (M.). — Etudes biochimiques sur le squelette tégumentaire des Décapodes Brachyours (variations au cours du cycle d'intermue). *Arch. Zool. exp. et gén.*, 82, 100-118.
1954. DUCHATEAU (G.) et FLORKIN (M.). — Sur la composition de l'arthropodine et de la scléroprotéine cuticulaires de deux Crustacés Décapodes (*Homarus vulgaris* Edwards, *Callinectes sapidus* Rathburn). *Physiol. Comp. Oecol.*, 3, 365-369.
1973. FOX (D.L.). — Chitin-bound keto-carotenoids in a crustacean carapace. *Comp. Biochem. Physiol.*, 44 B, 953-962.
1974. HACKMAN (R.H.). — The soluble cuticular proteins from three Arthropod species: *Scylla serrata* (Decapoda, Portunidae) *Boophilus microplus* (Acarina, Ixodidae) and *Agrianome spinicollis* (Coleoptera, Cerambycidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 49 B, 457-464.
1959. JEUNIAUX (Ch.). — Sur la gélification de la couche membraneuse chez les Crabes en mue. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 67, 516-517.
1963. JEUNIAUX (Ch.). — Chitine et Chitinolyse. Un chapitre de la biologie moléculaire. Masson et Cie Edit., Paris.
1965. JEUNIAUX (Ch.). — Chitine et Phylogénie: application d'une méthode enzymatique de dosage de la chitine. *Soc. Chim. Biol. Bull.*, 47, 959-966.
1969. KRISHNAM (G.). — Nature of cuticle protein of the branchiopod Crustacean *Streptocephalus dichotomus*, *Experientia*, 25, 658-659.
1943. LAFON (M.). — Recherches biochimiques et physiologiques sur le squelette tégumentaire des Arthropodes. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 11^e S., 5, 113-146.
1955. REISSIG (J.L.), STROMINGER (J.L.) et LELAIR (L.F.). — A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl-aminosugars, *J. Biol. Chem.*, 217, 959.
1969. STEVENSON (J.R.). — Sclerotin in the crayfish cuticle, *Comp. Biochem. Physiol.*, 30, 503-508.
1941. TRIM (A.R.). — Studies in the chemistry of the insect cuticle. I. Some general arthropod cuticle with special reference to the characterization of the proteins. *Biochem. J.*, 35, 1088-1098.
1974. WELINDER (B.S.). — The crustacean cuticle. I. Studies on the composition of the cuticle, *Comp. Biochem. Physiol.*, 47 A, 779-787.