

## BIOCHIMIE DE LA MUE CHEZ LES ARTHROPODES.

PAR

Charles JEUNIAUX.

### Introduction.

On peut difficilement parler des mues des Arthropodes sans opérer aussitôt la distinction entre celles des Insectes, celles des Arachnides et celles des Crustacés. Elles présentent de nombreux points de différence, ne serait-ce qu'en raison de la position ontogénétique des phénomènes de métamorphose qui les accompagnent. Ainsi, sous l'angle de la morphologie ou de l'anatomie comparées, de l'éthologie ou de l'histologie, il peut paraître malaisé de définir clairement le phénomène de la mue.

Toutefois, ce phénomène se présente sous un aspect beaucoup plus homogène, lorsqu'il est étudié sous l'angle de la biochimie comparée. Je voudrais tenter de résumer ici quelques aspects de la biochimie de la mue, principalement chez les Insectes et les Crustacés, en essayant de mettre en évidence le rôle très général d'« effecteurs biochimiques » qui semble dévolu à certaines molécules organiques, notamment à certains enzymes, dont l'action se situe entre la commande hormonale de la mue et le déroulement des bouleversements physiologiques et morphologiques qui la caractérisent (\*).

### 1. Composition du tégument des Arthropodes en général.

La cuticule est, chez tous les Arthropodes, constituée de deux parties bien distinctes : une épicuticule, où la chitine manque, qui contient essentiellement des lipoprotéines tannées et parfois des cirées, et une procuticule dont la caractéristique est d'être composée de chitine et de protéine, quels que soient les groupes d'Arthropodes envisagés.

La chitine des Arthropodes est une substance remarquablement homogène : c'est un haut polymère d'acétylglucosamine, très résis-

(\*) Il m'est agréable, à cette occasion, de rendre hommage à Monsieur le Professeur G. TEISSIER qui, en tant que Directeur de la Station Biologique de Roscoff, m'a toujours accueilli avec la plus grande amabilité dans les laboratoires de la Station, où, par ailleurs, j'ai pu profiter des conseils et des encouragements du Professeur DRACH, pionnier de l'étude de la physiologie de la mue chez les Crustacés.

tant à la plupart des agents de dégradation chimiques. Ce polysaccharide aminé ne peut être dégradé, dans la nature, que sous l'action d'enzymes hautement spécifiques : les chitinases. Ces enzymes ont été purifiés à partir de cultures bactériennes (JEUNIAUX, 1957a, 1959a). Les chitinases hydrolysent les liaisons  $\beta$ -1-4 acétylglucosaminidiques de la chitine mais conduisent surtout jusqu'au stade du dimère de l'acétylglucosamine : le chitobiose (BERGER et REYNOLDS, 1958). L'hydrolyse du chitobiose et des autres petits polymères d'acétylglucosamine est réalisée par une chitobiase (ZECHMEISTER et TOTH, 1939), enzyme distinct de la chitinase et qui en est séparé en cours de purification (JEUNIAUX, 1959b).

La chitine de la procuticule se trouve sous la forme de macromolécules libres ou de macromolécules associées avec des protéines. Les mucopolysaccharides que constituent ces complexes chitine-protéine commencent à être étudiés (HACKMAN, 1960). Dans certains cas, ces complexes glycoprotéiques peuvent présenter des propriétés hygroscopiques étonnantes : celles-ci expliquent le gonflement de certaines formations cuticulaires dans l'eau distillée (JEUNIAUX, 1959c).

La présence des protéines est également un caractère général de la procuticule des Arthropodes. On y distingue des arthropodines solubles dans l'eau ou dans diverses solutions salines, et des sclérotines, insolubles, tannées par des ponts aromatiques quinoniques. Les sclérotines ne sont pratiquement pas connues au point de vue biochimique. On en trouve dans toutes les procuticules ; chez les Insectes, la présence de sclérotines détermine la distinction entre exocuticule et endocuticule.

Les arthropodines ont été extraites, isolées, partiellement purifiées et caractérisées (TRIM, 1941 ; DUCHÂTEAU et FLORIN, 1954 ; HACKMAN, 1958). Leur composition en acides aminés semble relativement constante, et se caractérise par l'absence d'acides aminés soufrés (à part une très faible proportion de méthionine), une teneur élevée en acides aminés dicarboxyliques (10-16 %) et assez élevée en alanine et en glycocolle (7-9 %).

En plus de ces constituants organiques, il faut citer les sels minéraux, carbonate et phosphate de Ca, qu'on trouve dans les sclérites des Crustacés et des Myriapodes Diplopoïdes, à l'exclusion des autres Arthropodes. Dans l'exosquelette des Crustacés, les sels calcaires constituent jusqu'à 80 et 85 % du poids sec. La presque totalité de la procuticule est calcifiée. Seules, les strates cuticulaires les plus internes ne contiennent pas de sels calcaires. Cette « couche membraneuse » est composée de chitine, d'arthropodine et d'un complexe glycoprotéique (JEUNIAUX 1959c).

## 2. Caractérisation des stades de mue.

On réserve le nom de mue à l'ensemble des phénomènes qui précèdent l'abandon de la vieille cuticule et qui concourent à l'édification de la nouvelle. Le rejet de la vieille cuticule, c'est-à-dire de

l'exuvie, phénomène de mue, précède la mue ou ecdysis. La mue est la mue complète de la nouvelle cuticule.

L'analyse, par des méthodes simples, des constituants cuticulaires de différentes espèces de crustacés a permis de critiquer certains critères simples et de proposer à DRACH (1939) la méthode de Drach applicable à la majorité des crustacés.

Chez les Insectes la mue est précédée par une modification de la cuticule, puis par l'apparition de la capsule céphalique et de la capsule préexuviale de la mue. Le cours du filage du cordon de la mue prend comme point de départ la dernière défécation.

## 3. Activité

Les premiers indices de mue apparaissent au niveau de l'épiderme. On observe des cellules pendant les intermue, des cellules d'affinité pour les cellules en mitose. KRISHNAKUMAR a étudié les variations de la concentration des acides nucléiques (ARN) chez les insectes. La teneur en ARN de l'épiderme avant la mue, l'épiderme de la mue et les cellules de l'épiderme de la mue ont tent leurs acides nucléiques. L'ARN y intervient dans la formation des protéines, notamment dans la formation de la cuticule.

Les multiplications cellulaires de l'épiderme apparaissent ainsi un espacement de la mue, l'exuvie est rapidement remplacée par le liquide exuvial, sécrété par l'épiderme.

La sécrétion d'un liquide exuvial chez les larves d'insectes. Elle est précédée par la mue. Les propriétés de la mue ont été étudiées par PASSONNIER (1958). Ver à soie, on peut observer la mue de la prénymphe entre la mue de la mue et ce dernier cas, le liquide exuvial et d'ultrafiltrat.

chimiques. Ce polysaccharide, de nature, que sous les chitinasés. Ces enzymes bactériennes (JEUNIAUX, 1955) les liaisons  $\beta$ -1-4 acétyl- $\beta$ -D-glucosidases conduisent surtout jusqu'au chitobiose (BERGER et al., 1955) et des autres petits polysaccharides chitobiase (ZECHMEISER, 1955) chitinase et qui en est (JEUNIAUX, 1959b).

La forme de macro-molécules associées avec des protéines. Les complexes chitine-protéine (JEUNIAUX, 1960). Dans certains cas, ils présentent des propriétés qui expliquent le gonflement de la cuticule dans l'eau distillée (JEUNIAUX, 1959b).

Un caractère général de la mue est la distinction des arthropodines en ions salines, et des sclérotomiques en ions quinoniques. Les sclérotomiques sont connues au point de vue des procuticules ; chez les arthropodines, la distinction entre

est faite, partiellement purifiée par PASSONNEAU et FLORKIN, 1954 ; les acides aminés semble relative à l'absence d'acides aminés (méthionine), une teneur de 10-16 %) et assez élevée.

Il faut citer les sels minéraux qu'on trouve dans les sclérotomiques, à l'exclusion des arthropodines, les sels calcaires. La presque totalité des strates cuticulaires sont calcaires. Cette « couche » est caractéristique de l'arthropodine et d'un com-

### Les sels de mue.

Les phénomènes qui précèdent la mue concourent à l'édification de la cuticule, c'est-à-dire de

l'exuvie, phénomène spectaculaire mais de courte durée, est l'exuviation ou ecdysis. L'intermue sépare la fin d'une mue (édification complète de la nouvelle cuticule) du début de la mue suivante.

L'analyse, par des méthodes biochimiques, des modifications des constituants cuticulaires a été rendue possible grâce à la caractérisation des différentes étapes du déroulement de ces cycles au moyen de critères simples et souvent applicables à l'animal vivant. On doit à DRACH (1939) la mise au point d'une nomenclature précise, applicable à la majorité des Crustacés Décapodes.

Chez les Insectes Lépidoptères, les mues larvaires sont annoncées par une modification sensible de la coloration et de l'aspect du tégument, puis par l'apparition d'une tache triangulaire foncée derrière la capsule céphalique (stade du triangle : BOUNHIOL, 1948). La période préexuviale de la mue nymphale, qui s'établit pendant et au cours du filage du cocon, obéit à un « liming » rigoureux, si l'on prend comme point de repère le moment de la purge intestinale (Dernière défécation : BOUNHIOL, 1948).

### 3. Activation et rétraction de l'épiderme : sécrétions épidermiques.

Les premiers indices prémonitoires de la mue s'observent au niveau de l'épiderme. Les cellules épidermiques, généralement aplaties pendant les intermues, augmentent de volume, et montrent plus d'affinité pour les colorants. L'épiderme est le siège de nombreuses mitoses. KRISHNAKUMARAN (1961) a décrit d'intéressantes modifications de la concentration et de la distribution des acides ribonucléiques (ARN) chez un Orthoptère : *Gryllus bimaculatus*. Alors que la teneur en ARN de l'animal entier diminue considérablement peu avant la mue, l'épiderme, au contraire, s'enrichit en ARN. Les nucléoles deviennent de moins en moins pyroninophiles : ils transmettent leurs acides ribonucléiques au cytoplasme épidermique. Les ARN y interviennent vraisemblablement au cours des synthèses de protéines, notamment des synthèses d'enzymes.

Les multiplications cellulaires épidermiques entraînent des plissements de l'épiderme qui, bientôt, se détache et se rétracte. Il apparaît ainsi un espace (espace exuvial). Chez les Insectes, l'espace exuvial est rapidement occupé par un gel ou un liquide incolore, le liquide exuvial, sécrété par toute la surface de l'épiderme.

La sécrétion d'un liquide exuvial a été observée chez diverses larves d'insectes. Elle précède de 12 à 48 h le moment de l'exuviation. Les propriétés chimiques de ces liquides exuviaux ont été étudiées par PASSONNEAU et WILLIAMS (1954) chez *Platysamia cecropia*, et par JEUNIAUX et AMANIEU (1955) chez *Bombyx mori*. Chez le Ver à soie, on peut en recueillir de grandes quantités, en ligaturant la prénymphe entre la tête et le thorax (BOUNHIOL 1948). Mais, dans ce dernier cas, le liquide que l'on recueille est un mélange de liquide exuvial et d'ultrafiltrat de sang (JEUNIAUX, 1958).

Chez les nymphes, on a observé la sécrétion d'un gel exuvial (*P. cecropia* : PASSONNEAU et WILLIAMS 1954). La mise en place du gel exuvial précède de 6 à 10 jours l'exuviation.

Enfin, chez les Crustacés, on n'a jamais observé la sécrétion du liquide exuvial, car, au fur et à mesure de la formation de l'espace exuvial, ce dernier est comblé par le développement d'un gel mucilagineux, qui absorbe l'eau et les autres constituants sécrétés par l'épiderme. Ce gel mucilagineux n'est autre que la couche membraneuse en voie de transformation (voir plus loin).

On voit que, sur le plan de la description histologique, la situation se présente de manière fort différente, selon les animaux ou les stades considérés. Mais dans tous les cas suffisamment étudiés jusqu'à présent, on a pu montrer que cette période de rétraction de l'épiderme coïncide avec la sécrétion d'eau et d'enzymes, parmi lesquels notamment : des enzymes protéolytiques, des chitinases, et des chitobiases.

La sécrétion d'enzymes chitinolytiques et protéolytiques apparaît ainsi comme un caractère biochimique tout à fait général des épidermes d'Arthropodes en instance de mue.

On s'est demandé si ces enzymes sont élaborés au moment de la mue, ou si, mis en réserve sous une forme inactive pendant l'intermue, ils sont activés et excrétés au moment de la mue. A ce point de vue, on peut relever des différences entre Insectes et Crustacés.

A) Chez les Crustacés, l'élaboration de chitinase par la cellule épidermique est permanente, pendant tout le cycle de mue et d'intermue, et ne montre pas d'augmentation au cours des stades pré-exuviaux (JEUNIAUX, 1960). Cependant, dès le stade D<sub>1</sub>, il y a excrétion de cet enzyme, qu'on peut doser dans les couches membraneuses en voie de gélification. Donc, il faut admettre que, si l'élaboration (la synthèse) de chitinase ne varie pas, les possibilités pour les cellules d'excréter cet enzyme augmentent ou se réalisent au moment de la mue.

Contrairement aux chitinases, les chitobiases sont beaucoup plus abondamment sécrétées à partir du stade D<sub>1</sub>". Elles jouent évidemment un rôle très important, rendant les cellules aptes à utiliser les produits d'hydrolyse de la chitine.

B) Chez le Ver à soie, à l'opposé du cas des Crustacés, la sécrétion de chitinase est un phénomène cyclique particulièrement frappant (JEUNIAUX, 1957b). Chez les larves, l'élaboration de chitinase est nulle pendant toute l'intermue. L'élaboration et la sécrétion de chitinase sont strictement limitées, au niveau de l'épiderme, aux périodes qui caractérisent le début de la mue : le stade du triangle au cours des mues larvaires, le stade 24-72 h après la dernière défécation, au cours de la mue nymphale (Figure 1). Quant aux nymphes, il semble, d'après PASSONNEAU et WILLIAMS, pour *Platysamia cecropia*, que le liquide exuvial est mis en place assez prématurément, sous forme d'un gel riche en enzymes, qui se transforme en sel ultérieurement.

Le cycle de sécrétion synthèse cyclique de enzymes inactifs ? L'ac mais pu être obtenue (variation ménagée, variat JEUNIAUX, inédit). C'est zymes qui est à reten parallèle avec les variat KRISNAKUMARAN (1961) derme.

Enfin une sécrétion été mise en évidence, l mais l'étude détaillée d variations reste à faire

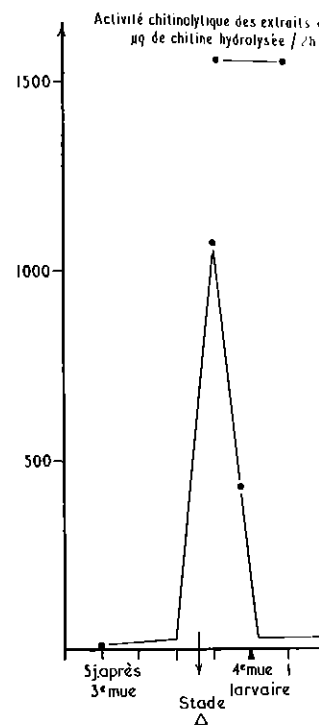


FIG. 1. — Elaboration cycl. Activité chitinolytique e. 5,2), au cours d'une incu tique correspondant à 1

#### 4. Hydroly

Les enzymes chitino derme entrent immé

tion d'un gel exuvial (P.  
La mise en place du gel

s observé la sécrétion du  
la formation de l'espace  
ppement d'un gel mucila-  
constituants sécrétés par  
e que la couche membra-  
s loin).

histologique, la situation  
n les animaux ou les sta-  
samment étudiés jusqu'à  
de rétraction de l'épi-  
l'enzymes, parmi lesquels  
des chitinases, et des chi-

et protéolytiques apparaît  
ut à fait général des épi-

laborés au moment de la  
e inactive pendant l'inter-  
nt de la mue. A ce point  
e Insectes et Crustacés.

chitinase par la cellule  
t le cycle de mue et d'in-  
au cours des stades pré-  
s le stade D<sub>1</sub>, il y a excré-  
les couches membraneu-  
dmettre que, si l'élabora-  
s, les possibilités pour les  
t ou se réalisent au mo-

biases sont beaucoup plus  
D<sub>1</sub>". Elles jouent évidem-  
cellules aptes à utiliser les

les Crustacés, la sécrétion  
particulièrement frappant  
poration de chitinase est  
ion et la sécrétion de chi-  
de l'épiderme, aux périodes  
: le stade du triangle au  
après la dernière déféca-  
e 1). Quant aux nymphes,  
s, pour *Platysamia cecro-*  
ce assez prématurément,  
se transforme en sel ulté-

Le cycle de sécrétion des enzymes chitinolytiques résulte-t-il d'une synthèse cyclique de chitinase, ou d'une activation cyclique de pré-curseurs inactifs ? L'activation d'un quelconque proenzyme n'a jamais pu être obtenue (essais au moyen de glutathion, cystéine, oxydation ménagée, variation de pH, addition de chitinases actives : JEUNIAUX, inédit). C'est donc la notion d'une synthèse cyclique d'enzymes qui est à retenir, et nous pouvons peut-être la mettre en parallèle avec les variations de concentration en ARN, observées par KRISNAKUMARAN (1961) chez un autre Insecte au niveau de l'épiderme.

Enfin une sécrétion d'enzymes protéolytiques par l'épiderme a été mise en évidence, tant chez les Crustacés que chez les Insectes, mais l'étude détaillée de ces enzymes, de leurs propriétés et de leurs variations reste à faire.

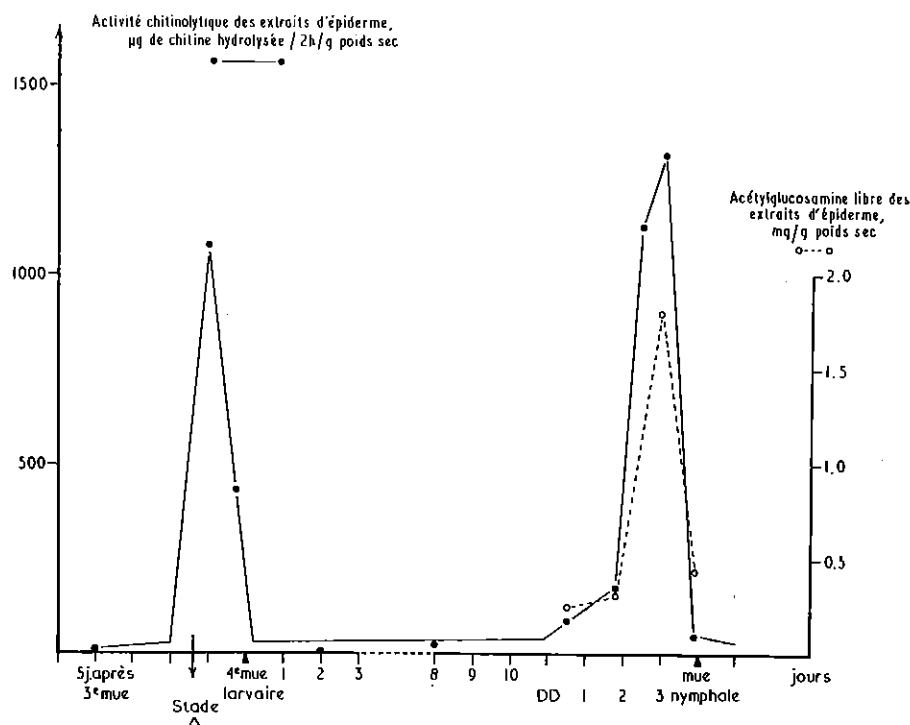


FIG. 1. — Elaboration cyclique de chitinase par l'épiderme de *Bombyx mori* L. Activité chitinolytique exprimée en  $\mu\text{g}$  de chitine hydrolysée (à 37° C et pH 5,2), au cours d'une incubation de 2 heures, sous l'action d'un extrait enzymatique correspondant à 1 g de tissus épidermiques secs.

#### 4. Hydrolyse des constituants cuticulaires.

Les enzymes chitinolytiques et protéolytiques sécrétés par l'épiderme entrent immédiatement en contact avec les couches profon-

des de la cuticule. L'hydrolyse de la chitine et des protéines entraîne un amincissement progressif de l'endocuticule chez les Insectes. Ce phénomène est bien visible sur coupes histologiques. Chez les Insectes, les scléroprotéines ne sont pas hydrolysées, de sorte que l'exocuticule résiste beaucoup mieux que l'endocuticule à la digestion par le liquide exuvial.

Chez les Crustacés, le processus d'hydrolyse des constituants cuticulaires est, dans ses grandes lignes, identique à celui des Insectes. Il se complique cependant par l'existence des sels calcaires et par celle de la couche membraneuse. Celle-ci est constituée de chitine, de protéine et d'un complexe glycoprotéique, association chitine-protéine résistant aux enzymes épidermiques. Au fur et à mesure que la chitine et les arthropodines de la couche membraneuse sont hydrolysées, le complexe glycoprotéique absorbe de l'eau, gonfle, et se transforme en un gel d'aspect muqueux (JEUNIAUX 1959c). Dans ce gel, s'accumulent transitoirement les enzymes. Ce gel remplace donc le liquide exuvial des Insectes. On connaît le rôle de lubrifiant que ce gel jouera au moment de l'exuviation.

La dégradation cuticulaire, chez les Crustacés, intéresse surtout la partie organique et peu la partie minérale. DRACH et LAFON l'avaient déjà montré en 1942. En fait, les sels calcaires de la carapace ne sont pas altérés, mais seulement partiellement libérés, lorsque leur support organique est détruit. DOROTHY TRAVIS (1955) a spécialement étudié la Langouste à ce point de vue. Au niveau des « lignes de résorption », (sutures ecdysiales), elle a enregistré, au cours de la mue, une diminution de 8,4 % seulement du calcaire contre une diminution de 23 % de la matière organique. Chez l'Écrevisse, MALUF enregistre une diminution de 4 % seulement du Ca de l'exosquelette.

La dégradation des substances organiques cuticulaires a été peu étudiée. Chez *Cancer pagurus* (JEUNIAUX, inédit), environ 20 % de la chitine sont hydrolysés entre le début de la mue et le stade D<sub>3</sub>. Parmi les protéines, les sclérotines ne semblent pas altérées, tandis que les arthropodines subissent, au total, une hydrolyse de 50 % environ. Cette dégradation n'intéresse pas de la même manière les différents types d'arthropodines : les arthropodines acido-solubles sont rapidement et très complètement dégradées, tandis que les arthropodines solubles dans les tampons boratés ne subissent qu'une dégradation partielle.

##### 5. Résorption des produits d'hydrolyse des constituants cuticulaires.

La digestion des protéines et de la chitine de la procuticule libère des acides aminés et de l'acétylglucosamine. Ces produits d'hydrolyse ne sont pas perdus pour l'économie de l'organisme, mais, au contraire, sont réabsorbés en grande partie à travers la surface de la peau, pendant toute la période où celle-ci est encore suffisamment perméable.

PASSONNEAU et W... capable d'absorber des... en injectant du glyco... à trois jours après l'i... actives.

Des constatations a... et chez *Bombyx mori*... rants dans le liquide... (1958). Le dosage de l'... de l'épiderme montre... tion de ces substances...

En ce qui concerne l'épiderme, il faut ten... sence de la jeune cuti...

Certes, à ce momen... l'épicuticule ne sont... protéines cuticulaires... l'eau, les sels et les p... jusqu'à l'épiderme. Q... auteurs qui ne compr... nouvelle cuticule sans...

En réalité, les enzy... dans les liquides exu... à leurs substrats resp... possibilité d'entrer en... exemple, la fixation d... même rapide (JEUNIAU... adsorbé à des cuticules... pour toutes les exuvie... de vue (exuvies larva... divers ordres, exuvies... on a pu montrer la pr... (HAMAMURA et KANEH...

L'explication du me... drolyse doit, d'autre... chez les Insectes, d'un... dation et l'épiderme :... membrane a été déce... Contrairement à l'opin... siale semble bien résul... tie la plus interne de l... Cette modification co... léine, ou, d'après d'au... tine et protéine. D'apr... cette membrane résis... perméable à l'eau et au... rôle de filtre, capable... capable d'arrêter les e...

et des protéines entraîne une modification chez les Insectes. Ce processus est biologique. Chez les Insectes, les protéines, de sorte que l'exocuticule à la digestion

analyse des constituants cuticulaires à celui des Insectes. Les sels calcaires et par conséquent la cuticule est constituée de chitine, de chitine et d'une association chitine-protéine. Au fur et à mesure que la membrane est hydrolysée, elle se gonfle, et se rompt (JEUNIAUX 1959c). Dans ce processus, ce gel remplace donc le rôle de lubrifiant que

les sels calcaires, intéresse surtout la cuticule. BRACH et LAFON l'avaient démontré par des analyses chimiques de la carapace de Crabe. Ils ont montré que les sels calcaires ne sont pas libérés, lorsque leur concentration est élevée (JEUNIAUX 1955) a spécialement étudié ce problème. Au niveau des « lignes de croissance », enregistré, au cours de la mue, du calcaire contre une membrane unique. Chez l'Écrevisse, la présence de calcium, et non seulement du Ca de l'exo-

cuticule a été peu étudié (inédit), environ 20 % de la mue et le stade D<sub>3</sub>. Les sels calcaires ne semblent pas altérés, tandis que la chitine subit une hydrolyse de 50 % de la même manière les protéines acido-solubles sont dégradées, tandis que les protéines non solubles ne subissent qu'une

#### Hydrolyse des sels calcaires.

Après la mue, la procuticule libère des sels calcaires. Ces produits d'hydrolyse sont libérés de l'organisme, mais, au moment de la mue, ils passent à travers la surface de la cuticule qui est encore suffisamment

PASSONNEAU et WILLIAMS (1953) ont montré que l'épiderme est capable d'absorber des acides aminés, chez la nymphe de *P. cecropia*, en injectant du glyco-colle radio-actif dans le liquide exuvial. Deux à trois jours après l'injection, les protéines de l'adulte sont radio-actives.

Des constatations analogues ont été faites chez *Rhodnius prolixus* et chez *Bombyx mori* au moyen d'injections de solutions de colorants dans le liquide exuvial (WIGGLESWORTH, 1933 ; JEUNIAUX, 1958). Le dosage de l'acétylglucosamine libre au niveau du sang et de l'épiderme montre également l'existence d'une importante résorption de ces substances.

En ce qui concerne la résorption des produits d'hydrolyse par l'épiderme, il faut tenir compte, à un moment donné, de la présence de la jeune cuticule en formation.

Certes, à ce moment, les couches de cire ou de tectocuticule de l'épicuticule ne sont pas encore déposées (WIGGLESWORTH), et les protéines cuticulaires ne sont pas encore tannées. On conçoit que l'eau, les sels et les petites molécules puissent diffuser facilement jusqu'à l'épiderme. Quant aux enzymes, leur sort inquiète certains auteurs qui ne comprennent pas comment ils peuvent traverser la nouvelle cuticule sans en hydrolyser les constituants.

En réalité, les enzymes n'existent pas longtemps à l'état libre dans les liquides exuviaux. Ils sont, en effet, rapidement adsorbés à leurs substrats respectifs, insolubles, et de ce fait, n'ont guère la possibilité d'entrer en contact avec la cuticule en formation. Par exemple, la fixation de la chitinase sur son substrat est un phénomène rapide (JEUNIAUX, 1959a), et cet enzyme peut être facilement adsorbé à des cuticules de Vers à soie (JEUNIAUX, 1957). Par ailleurs, pour toutes les exuvies fraîches qui ont été examinées à ce point de vue (exuvies larvaires ou nymphales d'Insectes appartenant à divers ordres, exuvies et couches membraneuses gélifiées de Crabes), on a pu montrer la présence de chitinases et de protéases adsorbées (HAMAMURA et KANEHARA, 1945 ; JEUNIAUX, 1957).

L'explication du mécanisme de la résorption des produits d'hydrolyse doit, d'autre part, tenir compte également de l'existence, chez les Insectes, d'une barrière entre la cuticule en voie de dégradation et l'épiderme : il s'agit de la membrane ecdysiale. Cette fine membrane a été découverte par C. WILLIAMS chez *P. cecropia*. Contrairement à l'opinion de LOWER (1957), cette membrane ecdysiale semble bien résulter d'une modification biochimique de la partie la plus interne de l'endocuticule (RICHARDS, 1958, MALEK, 1958). Cette modification consisterait (MALEK) en une liaison stérol-protéine, ou, d'après d'autres observations, dans une liaison entre chitine et protéine. D'après les observations de RICHARDS et de MALEK, cette membrane résiste aux enzymes du liquide exuvial. Elle est perméable à l'eau et aux petites molécules. On peut lui attribuer un rôle de filtre, capable de laisser diffuser les petites molécules, mais capable d'arrêter les enzymes.

### 6. Aspects biochimiques de l'exuviation.

L'hydrolyse des constituants cuticulaires entraîne, surtout au niveau de certaines sutures ou zones particulièrement fragiles, un amincissement et une fragilisation. C'est à partir du moment où ces « lignes ecdysiales » se fracturent que l'exuviation commence.

Le liquide exuvial chez les Insectes, le gel glycoprotéique de la couche membraneuse chez les Crustacés, jouent le rôle de lubrifiant. Chez les uns comme chez les autres, la fracture des lignes ecdysiales, l'étalement et le déplissement de la nouvelle cuticule sont engendrés sous l'effet de fortes pressions internes.

Dans le cas des Crustacés, un mécanisme biochimique a été invoqué pour expliquer l'origine de ces pressions internes et le gonflement caractéristique des stades A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> postexuviaux.

On sait qu'un Crustacé, au moment de l'exuviation, augmente rapidement de volume par absorption d'eau. Les variations de poids frais, poids sec, volume de liquide cavitaire, teneur en eau etc... ont été étudiées en détail par DRACH (1939). Pour expliquer cette pénétration d'eau, DRACH invoquait trois phénomènes simultanés :

1. Une augmentation de la perméabilité à l'eau et aux sels de la cuticule de l'estomac.

2. Une absorption active d'eau de mer par le Crabe, la création de fortes pressions d'eau à l'intérieur de l'estomac, et une filtration sous pression depuis la cavité gastrique vers le liquide cavitaire. Ces pressions d'eau au niveau de la cavité gastrique ont été mesurées.

3. Enfin, DRACH admettait l'existence d'une forte variation de pression osmotique du sang juste avant la mue, sur la foi d'un travail de BAUMBERGER et OLMSTEDT (1928), sur le Crabe euryhalin *Pachygrapsus crassipes*.

De telles variations de pression osmotique au moment de la mue n'ont pu être observées chez *Maia squinado*, *Carcinus maenas*, ni *Cancer pagurus* (JEUNIAUX, inédit). Les seules variations observées sont de très faible amplitude et se situent juste après l'exuviation ; elles semblent correspondre à une légère dilution des matières organiques du sang par de l'eau de mer absorbée.

Cette notion vient d'être confirmée par un travail de ROBERTSON (1960) qui a dosé les ions inorganiques du sang chez *Carcinus maenas* au cours de la mue, et n'a observé que des variations légères, dans le sens de celles que nous venons de décrire.

En conclusion, les observations de DRACH sur l'existence de pressions positives d'eau de mer dans la cavité gastrique restent la seule explication actuellement disponible de la pénétration d'eau au moment de la mue.

### 7. Conclusion.

En résumé, sur le plan physiologique et biochimique, la mue des Arthropodes consiste notamment dans la mise en jeu, sous contrôle

hormonal, de systèmes et protéolytiques d'or chitobiase, protéases permanente, soit de sécrétion, dans l'espace l'épiderme, lequel fonction glandulaire.

Ces enzymes hydrolyse de la cuticule : chitinase, sation de la cuticule, prédestinées : les lig l'acétylglucosamine e absorbés par l'épiderme un épithélium absorb

Ensuite se produit elle les enzymes qui y veau de fonction : il ténes de la nouvelle place du matériel néo nolyxydases, et sels n

Enfin, l'épiderme en mue.

En somme, ce qui l'épiderme d'élaborer d'élaborer et de sécr substances, enfin, la hydrolyse.

Institut Léon F.

- BAUMBERGER, J. C. et OL pressure and wa  
siol. Zoöl., 1, 531
- BERGER, L. R. et REYN strain of *Strepto*
- BOUNHIOL, J. J. — 194 du VII<sup>e</sup> Congrès
- DRACH, P. — 1939 — M des. Ann. Inst. O
- DRACH, P. et LAFON, M. tégumentaire des cycle d'intermue
- DUCHÂTEAU, Gh. et FLO podine et de la : capodes. *Physiol*
- HACKMAN, R. H. — 19 complexes in w  
Aust. J. Biol. Sc
- HACKMAN, R. H. et GOL of *Agrionome sp*



**exuviation.**

entraîne, surtout au niveau des articulations, des lésions cuticulaires fragiles, un peu à partir du moment où l'exuviation commence.

Le mucus glycoprotéique de la cuticule joue le rôle de lubrifiant, la fracture des lignes de la nouvelle cuticule provient de lésions internes.

Le mucus biochimique a été invoqué pour expliquer la gonflement des cuticules et le gonflement des cuticules.

Après l'exuviation, augmentent les variations de poids, de teneur en eau etc... ont été invoquées pour expliquer cette pénétration d'eau simultanée :

1° l'entrée à l'eau et aux sels de

2° par le Crabe, la création de l'estomac, et une filtration de l'eau vers le liquide cavitaire. Les enzymes gastriques ont été mesurées.

3° d'une forte variation de la teneur en eau, sur la foi d'un travail de Drach, sur le Crabe euryhalin.

4° Au moment de la mue chez *Carcinus maenas*, ni les variations observées juste après l'exuviation ; ni la dilution des matières organiques.

5° Un travail de ROBERTSON sur le sang chez *Carcinus maenas* montre des variations légères, qui ont été décrites.

6° Le travail de DRACH sur l'existence de pressions osmotiques dans le liquide gastrique restent la seule explication de la pénétration d'eau au mo-

7° Le travail biochimique, la mue des crustacés, mise en jeu, sous contrôle

hormonal, de systèmes enzymatiques extracellulaires chitinolytiques et protéolytiques d'origine épidermique. Ces enzymes : chitinase, chitobiase, protéases et exopeptidases sont élaborés soit de façon permanente, soit de façon cyclique, mais sont mis en place, par sécrétion, dans l'espace exuvial, dès le moment de la rétraction de l'épiderme, lequel fonctionne donc, à ce moment, comme un tissu glandulaire.

Ces enzymes hydrolysent les principaux constituants organiques de la cuticule : chitine et protéines. Ceci a pour résultat la fragilisation de la cuticule, principalement au niveau de certaines régions prédestinées : les lignes ecdysiales. Les produits d'hydrolyse sont l'acétylglucosamine et les acides aminés. Ceux-ci sont résorbés, absorbés par l'épiderme. A ce moment, l'épiderme fonctionne comme un épithélium absorbant, à l'instar d'un épithélium intestinal.

Ensuite se produit l'exuviation : l'exuvie est abandonnée, et avec elle les enzymes qui y restent adsorbés. L'épiderme change à nouveau de fonction : il achève la synthèse de la chitine et des protéines de la nouvelle cuticule, et assure le transport et la mise en place du matériel nécessaire à la sclérification : phénols, polyphénolxydases, et sels minéraux éventuellement.

Enfin, l'épiderme entre dans une nouvelle période de repos, l'intermue.

En somme, ce qui conditionne la mue, c'est la capacité pour l'épiderme d'élaborer et de sécréter chitine et protéines, puis celle d'élaborer et de sécréter les enzymes capables d'hydrolyser ces substances, enfin, la capacité de résorber les produits de cette hydrolyse.

Institut Léon Frédéricq, Biochimie, Université de Liège.

**BIBLIOGRAPHIE.**

- BAUMBERGER, J. C. et OLMSTED, J. M. D. — 1928. — Changes in the osmotic pressure and water content of crabs during the molt cycle. *Physiol. Zool.*, 1, 531-544.
- BERGER, L. R. et REYNOLDS, D. M. — 1958 — The chitinase system of a strain of *Streptomyces griseus*. *Bioch. Biophys. Acta*, 29, 522-534.
- BOUNHIOL, J. J. — 1948. — Aperçu sur la mue et sa physiologie. *Actes du VII<sup>e</sup> Congrès Séricicole International* (p. 95-118), Alès, France.
- DRACH, P. — 1939 — Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Ann. Inst. Océan.*, 19, 106-377.
- DRACH, P. et LAFON, M. — 1942. — Etudes biochimiques sur le squelette tégumentaire des Décapodes Brachyours (variations au cours du cycle d'intermue). *Arch. Zool. Exp. Gen.*, 82, 100-118.
- DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. — 1954. — Sur la composition de l'arthropodine et de la scléroprotéine cuticulaires de deux Crustacés Décapodes. *Physiol. Comp. et Oecol.*, 3, 365-369.
- HACKMAN, R. H. — 1960. — Studies on chitin. IV. The occurrence of complexes in which chitin and protein are covalently linked. *Austr. J. Biol. Sci.*, 13, 568-577.
- HACKMAN, R. H. et GOLDBERG, M. — 1958 — Proteins of the larval cuticle of *Agrianome spinicollis* (Coleoptera). *J. Ins. Physiol.*, 2, 221-231.

- HAMAMURA, Y. et KANEHARA, Y. — 1940. — Enzymatic studies on exuvial fluid of *Bombyx mori*. II. chitinase. *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 16, 907.
- JEUNIAUX, Ch. — 1957a. — Purification of a *Streptomyces* chitinase. *Biochem. J.*, 66, 29P.
- JEUNIAUX, Ch. — 1957b. — Les enzymes d'origine épidermique au cours du phénomène de la mue chez les Insectes. *Actes de la Société Linnéenne de Bordeaux* (Vol. 97), *Colloque sur les Métamorphoses, Congrès de l'A.F.A.S., Périgueux*.
- JEUNIAUX, Ch. — 1958. — Résorption du liquide exuvial chez le ver à soie (*Bombyx mori* L.). *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 66, 121-122.
- JEUNIAUX, Ch. — 1959a. — Recherches sur les chitinases. II. — Purification de la chitinase d'un streptomycète, et séparation électrophorétique de principes chitinolytiques distincts. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 67, 597-617.
- JEUNIAUX, Ch. — 1959b. — Action consécutive de deux enzymes différents au cours de l'hydrolyse complète de la chitine. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 67, 115-116.
- JEUNIAUX, Ch. — 1959c. — Sur la gélification de la couche membraneuse de la carapace chez les crabes en mue. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 67, 516-517.
- JEUNIAUX, Ch. — 1960. — Activité des chitinases et des chitobiasés de l'hépatopancréas et de l'épiderme de *Maia squinado* HERBST. (Crustacé Décapode) au cours de la mue. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.*, 68, 837-838.
- JEUNIAUX, Ch. et AMANIEU, M. — 1955. — Propriétés chitinolytiques du liquide exuvial du ver à soie (*Bombyx mori* L.). *Experientia*, 9, 195-197.
- KRISHNAKUMARAN, A. — 1961. — Ribonucleic acids in the moult cycle of an Insect. *Nature*, 189, 243-244.
- LOWER, H. F. — 1957. — The development of the integument during the life cycle of *Persectania ewingii* (WWD). *Zool. Jahrb., (Anat.)*, 76, 165.
- MALEK, S.R.A. — 1958. — The origin and nature of the ecdysial membrane in *Schistocerca gregaria* (FORSKÅL). *J. Insect. Physiol.*, 2, 298.
- PASSONNEAU, J. V. et WILLIAMS, C. M. — 1953. — The moulting fluid of the cecropia silkworm. *J. Exper. Biol.*, 30, 545-560.
- RICHARDS, A. G. — 1958. — The ecdysial membrane of the moth, *Ephestiu kühniella* Z. *Zeitschr. Naturf.*, 13, 811-813.
- ROBERTSON, J. D. — 1960. — Ionic regulation in the crab *Carcinus maenas* L. in relation to the moulting cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1, 183-212.
- TRAVIS, D. F. — 1955. — The molting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* LATREILLE. II. Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. *Biol. Bull.*, 108, 88-112.
- TRAVIS, D. F. — 1955. — The molting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* LATREILLE. III. Physiological changes which occur in the blood and urine during the normal molting cycle. *Biol. Bull.*, 109, 484-503.
- TRIM, A. R. — 1941. — Studies in the chemistry of the insect cuticle. I. Some general observations on certain Arthropod cuticles with special reference to the characterization of the proteins. *Biochem. J.*, 35, 1088-1098.
- WIGGLESWORTH, V. G. — 1933. — The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera). *Quart. J. Micr. Sci.*, 76, 269.
- ZECHMEISTER, L. and TOTH, G. — 1939. — Chromatographie der in der Chitinreihe wirksamen Enzyme des Emulsins. *Enzymologia*, 7, 165. 165.