

Reçu le 5 mars 1962.

CONSTITUANTS OSMOTIQUEMENT ACTIFS
DES MUSCLES DU CRABE CHINOIS
ERIOCHEIR SINENSIS,
ADAPTÉ A L'EAU DOUCE OU A L'EAU DE MER

PAR

S. BRICTEUX-GRÉGOIRE, Gh. DUCHÂTEAU-BOSSON,
Ch. JEUNIAUX et M. FLORKIN
(Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège)

Introduction

L'objectif du présent travail est de définir les constituants assurant la concentration osmolaire des fibres musculaires chez le crabe chinois vivant dans l'eau douce, et la nature des changements par lesquels s'établit une nouvelle concentration osmolaire intra-cellulaire lorsque les animaux s'adaptent à l'eau de mer. Dans l'eau douce, la régulation anisosmotique du sang a pour effet de maintenir une concentration du plasma sanguin correspondant, dans les conditions de nos élevages (en eau douce), à des valeurs de l'abaissement cryoscopique (Δ) comprises entre 0°99 et 1°20 C. (moyenne : 1°11). Dans l'eau de mer, le sang est en équilibre osmotique avec le milieu extérieur ($\Delta = -2°09$). Dans des communications préliminaires, nous avons déjà montré l'intervention dans l'ajustement osmotique intracellulaire d'*Eriochair sinensis*, des acides aminés libres, présentant une variation considérable de concentration suivant que l'animal vit dans l'eau douce ou dans l'eau de mer (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1955, 1956) alors que le degré d'hydratation des muscles est à peu de chose près le même dans les deux milieux (SCHOLLES, 1933). Dans le cas de *Carcinus maenas*, le phénomène a été bien mis en évidence par SHAW (1958).

Méthodes

Dès leur arrivée au laboratoire le 9 juin 1961, les crabes chinois, pêchés par les soins du Rijksinstituut voor Visserij-Onderzoek à IJmuiden (Pays-Bas) ont été placés dans de l'eau

courante aérée. Le 19 juin, on a provoqué l'autonomie de deux pattes de chaque crabe. Les muscles de ces pattes ont été dans chaque cas disséqués, lavés à l'eau de mer diluée deux fois, essorés au papier filtre et pesés. Une portion a été mise dans l'eau bouillante pendant cinq minutes, pour inactiver les enzymes protéolytiques. La suspension a été ensuite homogénéisée au moyen d'un mixer. Les homogénats ont été soumis à la dialyse, contre dix fois leur volume d'eau distillée, à 1° C., pendant 24 heures. Les dialysants ont été évaporés, sous vide, à une température inférieure à 60°. Une fraction a été utilisée, telle quelle, pour le dosage de l'azote total, de l'oxyde de triméthylamine et de la glycocolle-bétaïne. Une autre partie des dialysats a été hydrolysée par ébullition à reflux, en présence d'HCl 6 N, pendant 24 heures. Elle a servi au dosage des acides aminés.

Une autre fraction des muscles a été utilisée dans chaque cas pour la détermination de la teneur en eau, puis, après broyage du résidu sec, pour le dosage des constituants inorganiques.

Après le prélèvement des deux pattes, chaque crabe a été progressivement adapté à de l'eau de mer artificielle ($\Delta = -2^{\circ}09$ C.) par passages successifs dans de l'eau de mer à 33 p. 100, à 50 p. 100, à 66 p. 100 et à 100 p. 100. Dans chacun de ces milieux oxygénés par barbotage d'air, l'animal est resté pendant 24 heures. Enfin, on l'a maintenu pendant trois jours dans l'eau de mer non diluée, renouvelée deux fois au cours de cette période, à la fin de laquelle les pattes ont été prélevées et traitées comme il est décrit ci-dessus.

Dosage des acides aminés et de la taurine.

Il a été effectué par la méthode de MOORE et STEIN par chromatographie sur deux colonnes d'amberlite CG 120, l'une de 150 cm. pour les acides aminés neutres ou acides, l'autre de 15 cm. pour les acides aminés basiques. Des fractions de 2 ml. ont été recueillies au moyen d'un collecteur, une pression d'azote de 30 mm. de mercure, exercée sur la colonne de 150 cm., assurant son débit. Chaque fraction, additionnée d'un ml. de réactif de MOORE et STEIN contenant de la ninhydrine et de l'hydrindantine, a été chauffée à 100° pendant 15 minutes. La densité optique de la solution colorée a été mesurée au moyen d'un spectrophotomètre, à 570 m μ .

Dans la région acide gl ont reçu le réactif. Après une coloration jaune don la proline a été dosée dans de CHINARD (1952) et les

Des essais antérieurs a les teneurs en acides an des dialysats hydrolysés de l'acide aspartique et c tives à ces deux acides an aminé et de son amide,

Dosage de l'azole total n

Il a été déterminé d Kjeldahl.

Dosage de l'oxyde de tri

La méthode adoptée, *et al.* (1955) dans leurs réduire l'oxyde de tri auteurs. On dose ensuit quel et dans le dialysat de PARNAS après additic de potasse à 40 p. 100 dans le cas du dialysa l'ammoniaque libre et l yse de la glutamine. Da fournit en outre l'amm La différence correspo contrôles l'ont montré, l varie entre 95 et 100 p glycocolle-bétaïne ne

Dosage de la glycocolle-

Nous n'avons pu obt de la méthode préconis pitation du reineckate opère à la température

et al.

l'autonomie de deux pattes ont été dans diluée deux fois, essorés été mise dans l'eau inactiver les enzymes suite homogénéisée au é soumis à la dialyse, ée, à 1° C., pendant sous vide, à une tem- é utilisée, telle quelle, de triméthylamine et e des dialysats a été présence d'HCl 6 N, ge des acides aminés. ilisée dans chaque cas a, puis, après broyage uants inorganiques. , chaque crabe a été de mer artificielle dans de l'eau de mer 0 p. 100. Dans chacun air, l'animal est resté u pendant trois jours deux fois au cours de ttes ont été prélevées

RE et STEIN par chro- lite CG 120, l'une de ou acides, l'autre de Des fractions de 2 ml. r, une pression d'azote e de 150 cm., assurant d'un ml. de réactif de e et de l'hydrindantine, La densité optique de en d'un spectrophoto-

Dans la région acide glutamique-proline, seuls les tubes pairs ont reçu le réactif. Après localisation de la proline qui donne une coloration jaune dont l'intensité est appréciée à 440 m μ ., la proline a été dosée dans les tubes impairs, au moyen du réactif de CHINARD (1952) et les résultats ont été multipliés par deux.

Des essais antérieurs avaient montré que la différence entre les teneurs en acides aminés des dialysats non hydrolysés et des dialysats hydrolysés se marque uniquement dans les cas de l'acide aspartique et de l'acide glutamique. Les valeurs relatives à ces deux acides aminés concernent donc le total de l'acide aminé et de son amide, asparagine ou glutamine.

Dosage de l'azole total non protéique.

Il a été déterminé dans les dialysats, par la méthode de Kjeldahl.

Dosage de l'oxyde de triméthylamine.

La méthode adoptée, dérive de celle qu'ont utilisée KERMACK *et al.* (1955) dans leurs analyses de muscles de homard. Pour réduire l'oxyde de triméthylamine, on procède comme ces auteurs. On dose ensuite les bases volatiles dans le dialysat tel quel et dans le dialysat réduit, par distillation dans l'appareil de PARNAS après addition, respectivement de 10 ml. et de 15 ml. de potasse à 40 p. 100. La quantité d'ammoniaque recueillie dans le cas du dialysat tel quel correspond à la somme de l'ammoniaque libre et de l'ammoniaque provenant de l'hydrolyse de la glutamine. Dans le cas du dialysat réduit, la distillation fournit en outre l'ammoniaque dérivant de la triméthylamine. La différence correspond donc à cette dernière. Comme des contrôles l'ont montré, le rendement en oxyde de triméthylamine varie entre 95 et 100 p. 100. Dans les conditions adoptées, la glycolle-bétaïne ne fournit pas d'ammoniaque.

Dosage de la glycolle-bétaïne.

Nous n'avons pu obtenir de résultats satisfaisants par l'usage de la méthode préconisée par KERMACK *et al.* (1955) : la précipitation du reineckate de bétaïne n'est pas quantitative si on opère à la température du laboratoire et, dans ces conditions, le

précipité se redissout presque complètement lors des lavages. Par contre, la méthode de FOCHT *et al.* (1956) nous a donné des résultats très satisfaisants en ce qui concerne la précipitation de la bêtaïne sous forme de reineckate. Appliqué au dialysat tel quel, de muscle d'*Eriocheir*, ce procédé précipite toutefois, avec la bêtaïne, l'oxyde de triméthylamine, l'arginine et la proline. Ces deux derniers acides aminés existent à des concentrations relativement élevées dans les muscles du crabe chinois. Pour éliminer le reineckate d'arginine du précipité, KERMAK *et al.* (1955) préconisent les lavages au moyen de n-propanol. Même à la chambre froide à 4° C., ces lavages éliminent aussi selon notre expérience, une portion du reineckate de bêtaïne. Aussi avons-nous préféré, pour isoler cette dernière, recourir à la méthode chromatographique de KONOSU et KASAI (1961), mise au point par ces auteurs en vue du dosage de la bêtaïne dans des extraits de muscles d'animaux aquatiques. Cette méthode permet de recueillir des fractions ne contenant plus que la bêtaïne et la proline. Lorsque la portion du dialysat de muscles d'*Eriocheir* traitée par le sel de Reinecke ne contient pas plus de 2.5 mg. de proline, on peut doser la bêtaïne présente sans que la proline influence le résultat. Nous avons vérifié que, dans des échantillons plus riches en proline, on pouvait éliminer cet acide aminé par une chromatographie supplémentaire, sur Amberlite IRA-400 selon KONOSU et KASAI (1961). La méthode chromatographique de ces auteurs, appliquée à des mélanges d'acides aminés et de bêtaïne, permet de déterminer avec un rendement de 95 à 100 p. 100 des teneurs en bêtaïne variant entre 5 et 20 mg. dans l'échantillon.

Dosage des constituants inorganiques.

Le dosage du chlorure a été accompli par la méthode de VAN SLYKE et SENDROY (1923). Pour le dosage des ions Na, K, Ca et Mg, les muscles séchés et broyés ont été incinérés à 500°.

Sodium : précipitation par le réactif de KAHANE (1930). Lavages du précipité selon LAMBRECHTS et DELTOMBE (1941). Redissolution du précipité dans l'eau. Titrage de l'acide acétique par la soude 0.02 N, en présence de phénolphthaléine (modification de la méthode de WEINBACH (1935)).

Potassium : méthode FENN et COBB (1934) e

Calcium : précipitation à volumes égaux d'alco

Titration de l'acide oxal

Magnésium : dans précipitation du magnésio-magnésien (BRUCE) du colorimètre photoél

Espace extracellulaire.

SHAW (1955) a montré la relation entre une fibre prélevée comme il est indiqué de *Carcinus maenas*. Cette préparation, le sang qui s'écoule du tillon, et le liquide extracellulaire s'est vérifiée chez *Eriocheir*. L'eau douce, on a injecté dans de l'eau de mer. Après 7 heures et après avoir coupé les pattes, et le dosage de l'acide n'a pas montré, en ce qui concerne la différence entre les animaux

Chez les animaux, les constituants inorganiques forment une part importante (40 p. 100) de la composition osmotique. Le reste est constitué par des composés organiques, parmi lesquels on trouve plus de 50 p. 100 de la composition osmotique importants parmi les acides aminés (phosphoarginine), la proline. La participation de la proline aux constituants osmotiques est voisine de celle du glucose. Ils viennent aussi à peu

Potassium : méthode de SHOHL et BENNETT, modifiée par FENN et COBB (1934) et par WILDE (1939).

Calcium : précipitation de l'oxalate. Lavages avec un mélange à volumes égaux d'alcool, d'éther et d'ammoniaque à 2 p. 100. Titration de l'acide oxalique par le permanganate.

Magnésium : dans le filtrat de précipitation du calcium, précipitation du magnésium sous forme de phosphate ammoniaco-magnésien (BRIGGS, 1924). Dosage du phosphore au moyen du colorimètre photoélectrique de KLETT-SUMMERSON.

Espace extracellulaire.

SHAW (1955) a montré qu'il n'y a pas de différence de composition entre une fibre musculaire isolée et le tissu musculaire prélevé comme il est indiqué plus haut, au niveau d'une patte de *Carcinus maenas*. Cela revient à dire que, dans ce procédé de préparation, le sang qui pourrait rester à l'intérieur de l'échantillon, et le liquide extracellulaire, sont éliminés. Cette conclusion s'est vérifiée chez *Eriocheir sinensis*. A des crabes gardés dans de l'eau douce, on a injecté 2 ml. d'une solution d'inuline à 3 p. 100 dans de l'eau de mer diluée deux fois. Le sang a été prélevé après 7 heures et après 17 heures, de même que les muscles des pattes, et le dosage de l'inuline par la méthode de ROE *et al.* (1949) n'a pas montré, en ce qui concerne les muscles prélevés, de différence entre les animaux injectés et les témoins.

Résultats

Chez les animaux adaptés à l'eau douce, les constituants inorganiques forment, ainsi que le montre le tableau III, une importante part (40 p. 100 environ), des constituants osmotiquement actifs. Le reste de la pression osmotique est approximativement expliqué par la présence de petites molécules organiques, parmi lesquelles les acides aminés dosés constituent plus de 50 p. 100 de la somme des osmoles organiques. Les plus importants parmi les acides aminés sont, du point de vue de la composante osmotique, le glycocolle, l'arginine (y compris la phosphoarginine), la proline, l'alanine et l'acide glutamique. La participation de l'oxyde de triméthylamine à l'ensemble des constituants osmotiquement actifs est importante et est voisine de celle du glycocolle. La taurine et la bétaïne interviennent aussi à peu près au même degré que l'alanine et la

proline. L'intervention de l'ensemble des molécules contenant l'azote indéterminé se chiffre approximativement par le double de celle de l'oxyde de triméthylamine ou du glycoColle.

En dépit du fait qu'il est à prévoir que le coefficient osmotique des constituants dosés n'est pas égal à l'unité, il apparaît que les

TABLEAU I.

Concentration des fibres musculaires d'Eriocheir sinensis en constituants organiques osmotiquement actifs, mg. p. 100 de tissu frais.

	E ₁		E ₂	
	Eau douce	Eau de mer	Eau douce	Eau de mer
Alanine	124	300	131	475
Arginine (*)	520	720	517	710
Acide aspartique total	58	120	39	115
Acide glutamique total	180	400	124	310
GlycoColle	280	400	348	600
Isoleucine	14	44	11	31
Leucine	23	59	18	52
Lysine + histidine + X (dosés sous forme de lysine)	114	234	169	202
Phénylalanine	0	tr	0	tr
Proline	170	320	44	200
Sérine	44	59	22	49
Taurine	144	125	209	258
Thréonine	43	138	43	136
Tyrosine	0	tr	0	tr
Valine	0	70	0	59
Oxyde de triméthylamine	305	409	277	423
Bétaïne	90	60	247	183
Azote total du dialysat.....	528	824	522	827
Azote aminé du dialysat (ninydrine).....	282	485	277	522
Azote indéterminé du dialysat (azote total moins l'azote des constituants organiques dosés).....	123.5	193.6	101.8	137.3

(*) Y compris la phosphoarginine, qui est hydrolysée au cours de la préparation des échantillons.

constituants azotés, ajoutés rendent compte de la plus grande part de la composante osmotique.

Quand les animaux sont analysés comme le montrent les tableaux de concentration des constituants dosés, de l'oxyde de triméthylamine terminé. Les concentrations

TABLEAU II.
Concentration des fibres musculaires d'Eriocheir sinensis en constituants inorganiques osmotiquement actifs, mg. p. 100 de tissu frais.

Chlorure	
Sodium	
Potassium	
Calcium	
Magnésium	

Eau p. 100.....

montrent pas d'accroissement de la faible diminution d'hydratation des animaux adaptés à l'eau de mer, la part très faible de la variation osmotiquement actifs. La plus grande part, ou le coefficient osmotique responsable du contenu cellulaire et le plasma devient, dans l'eau de mer, et VI montrent les incréments des constituants osmotiquement actifs. L'azote des acides aminés dosés est apprécié dans l'avion déjà noté en 1955.

molécules contenant
ivement par le double
du glycole.
e coefficient osmotique
ité, il apparaît que les

d'Eriocheir sinensis
mg. p. 100 de tissu frais.

Eau mer	E ₂	
	Eau douce	Eau de mer
300	131	475
720	517	710
120	39	115
400	124	310
400	348	600
44	11	31
59	18	52
234	169	202
tr	0	tr
320	44	200
59	22	49
125	209	258
138	43	136
tr	0	tr
70	0	59
409	277	423
60	247	183
824	522	827
485	277	522
193.6	101.8	137.3

ée au cours de la préparation

constituants azotés, ajoutés aux constituants inorganiques, rendent compte de la plus grande part, sinon de la totalité de la composante osmotique.

Quand les animaux sont adaptés à l'eau de mer, on observe, comme le montrent les tableaux I, II et III, une augmentation de concentration des constituants inorganiques, des acides aminés dosés, de l'oxyde de triméthylamine, et de l'azote indéterminé. Les concentrations de la taurine et de la bétaine ne

TABLEAU II.
Concentration des fibres musculaires d'Eriocheir sinensis, en constituant inorganiques osmotiquement actifs, mg. p. 100 g. de tissu frais.

	E ₁		E ₂	
	Eau douce	Eau de mer	Eau douce	Eau de mer
Chlorure	219.4	400.4	128.8	441.0
Sodium	128.0	238.7	77.6	251.3
Potassium	180.1	456.9	268.4	386.2
Calcium	38.3	24.0	17.0	33.1
Magnésium	17.9	39.5	18.1	45.3
Eau p. 100.....	81.3	73.7	81.4	74.4

montrent pas d'accroissement. Comme le montre le tableau IV, la faible diminution d'hydratation que subit le tissu musculaire des animaux adaptés à l'eau de mer ne rend compte que d'une part très faible de la variation de concentration des constituants osmotiquement actifs. La somme de ces derniers rend compte de la plus grande part, ou même de la totalité de la composante osmotique responsable du nouvel équilibre qui s'établit entre le contenu cellulaire et le plasma sanguin dont la concentration devient, dans l'eau de mer, égale à cette dernière. Les tableaux V et VI montrent les incréments des concentrations des différents constituants osmotiquement actifs. La concentration globale des acides aminés dosés est approximativement doublée, comme nous l'avons déjà noté en 1955 dans une communication préliminaire

TABLEAU III.

*Constituants osmotiquement actifs des fibres musculaires
d'Eriocheir sinensis, dans l'eau douce et dans l'eau de mer.
Concentrations en millimoles ou en milli-ions-g. par kilo d'eau.*

	E ₁		E ₂	
	Eau douce	Eau de mer	Eau douce	Eau de mer
Chlorure	76.0	153.1	44.6	166.9
Sodium	68.5	140.8	41.4	146.9
Potassium	56.8	159.0	84.5	133.1
Calcium	11.7	8.1	5.2	11.2
Magnésium	9.2	22.4	9.2	25.3
Total des constituants inorganiques	222.2	483.4	184.9	483.4
Alanine	17.1	46.1	18.1	71.9
Arginine	36.7	56.0	36.5	54.7
Acide aspartique (total)	5.4	12.2	3.6	11.7
Acide glutamique (total)	15.0	36.8	10.3	28.2
Glycocolle	46.5	73.4	57.0	108.5
Isoleucine	1.4	4.6	1.0	3.2
Leucine	2.2	6.1	1.7	5.4
Lysine + histidine + X	9.6	21.7	14.3	18.5
Phénylalanine	0	tr	0	tr
Proline	18.2	37.3	4.7	23.7
Sérine	5.2	7.6	2.6	6.3
Thréonine	4.4	17.2	4.4	15.3
Tyrosine	0	tr	0	tr
Valine	0	8.1	0	6.9
Total des acides aminés dosés	161.7	327.0	154.2	354.3
Taurine	14.1	13.6	20.5	27.7
Oxyde de triméthylamine	49.9	73.9	45.3	75.8
Bétaïne	9.5	6.9	25.7	21.0
N indéterminé	108.5	187.7	89.3	131.9
Total des constituants dosés	565.9	1092.5	520.0	1094.1
Concentration osmolaire calculée (Δ milieu intérieur \times 1000) ... 1.87	588.0	1117.6	588.0	1117.6

*Effet de la diminution d'
sinensis sur la teneur de
actifs, lors du po*

Millimoles
ou milli-ions g.
p. kilo eau

E₁

Concentration dans l'eau douce

Concentration dans l'eau de mer

Concentration calculée pour l'eau de mer si la déshydratation intervenait seule

Augmentation non expliquée par la déshydratation

E₂

Concentration dans l'eau douce

Concentration dans l'eau de mer

Concentration calculée pour l'eau de mer si la déshydratation intervenait seule

Augmentation non expliquée par la déshydratation

TABLEAU IV.

Effet de la diminution d'hydratation des fibres musculaires d'Eriocheir sinensis sur la teneur de ces fibres en leurs constituants osmotiquement actifs, lors du passage de l'eau douce à l'eau de mer.

Eau mer	E ₂	
	Eau douce	Eau de mer
3.1	44.6	166.9
0.8	41.4	146.9
9.0	84.5	133.1
8.1	5.2	11.2
2.4	9.2	25.3
3.4	184.9	483.4
6.1	18.1	71.9
6.0	36.5	54.7
2.2	3.6	11.7
6.8	10.3	28.2
3.4	57.0	108.5
4.6	1.0	3.2
6.1	1.7	5.4
1.7	14.3	18.5
tr	0	tr
7.3	4.7	23.7
7.6	2.6	6.3
7.2	4.4	15.3
tr	0	tr
8.1	0	6.9
7.0	154.2	354.3
3.6	20.5	27.7
3.9	45.3	75.8
6.9	25.7	21.0
7.7	89.3	131.9
2.5	520.0	1094.1
7.6	588.0	1117.6

Millimoles ou milli-ions g. p. kilo eau	Constituants inorganiques	Acides aminés dosés	Oxyde de triméthylamine	N aminé (ninhydrine)	N indéterminé	N total non protéique (KJELDAHL)
E ₁						
Concentration dans l'eau douce	222.2	175.8	49.9	247.7	108.5	463.8
Concentration dans l'eau de mer	483.4	340.6	73.9	470.0	187.7	798.6
Concentration calculée pour l'eau de mer si la déshydratation inter- venait seule	245.1	193.9	55.0	273.2	119.7	511.6
Augmentation non- expliquée par la déshydratation	238.3	146.7	18.9	196.8	68.0	287.0
E ₂						
Concentration dans l'eau douce	185.0	174.7	45.3	243.1	89.3	458.1
Concentration dans l'eau de mer	483.4	382.0	75.8	501.2	131.9	794.0
Concentration calculée pour l'eau de mer si la déshydratation inter- venait seule	202.4	191.0	49.6	266.0	97.7	501.2
Augmentation non expliquée par la déshydratation	281.0	191.0	26.2	235.2	34.2	292.8

TABLEAU V.

Différences entre les teneurs en constituants osmotiquement actifs des fibres musculaires d'Eriocheir sinensis chez les animaux vivants dans l'eau de mer, par rapport aux animaux vivant dans l'eau douce. Millimoles ou milli-ions g. p. kilo d'eau

	E ₁	E ₂
Chlorure	+ 77.1	+122.3
Sodium	+ 72.3	+105.5
Potassium	+102.2	+ 48.6
Calcium	- 3.6	+ 6.0
Magnésium	+ 13.2	+ 16.1
Total des constituants inorganiques	+261.2	+298.5
Alanine	+ 29.0	+ 53.8
Arginine	+ 19.3	+ 18.2
Acide aspartique (total)	+ 6.8	+ 8.1
Acide glutamique (total)	+ 21.8	+ 17.9
Glycocolle	+ 26.8	+ 51.5
Isoleucine	+ 3.2	+ 2.2
Leucine	+ 3.9	+ 3.7
Lysine + histidine + X	+ 12.1	+ 4.2
Phénylalanine	± 0	± 0
Proline	+ 19.1	+ 19.0
Sérine	+ 2.4	+ 3.7
Thréonine	+ 12.8	+ 10.9
Tyrosine	± 0	± 0
Valine	+ 8.1	+ 6.9
Total des acides aminés dosés	165.3	200.1
Taurine	- 0.5	+ 7.2
Oxyde de triméthylamine	+ 24.0	+ 30.5
Bétaïne	- 2.6	- 4.7
N indéterminé	+ 79.2	+ 42.6
Total des constituants dosés	526.6	574.2..
Total des constituants osmotiques actifs ($\Delta \times 1000$)	529	529
1.87		

Fibres musculaires d'Eriocheir sinensis
l'abaissement cryoscopique (Δ) lors

Variation du Δ

Variation du Δ due aux éléments

Variations du Δ due aux acides

Variation du Δ due à l'oxyde de t

Variation du Δ due à l'azote inc

Variation totale du Δ

(DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1956). Cette étude de la composition chimique de la musculature d'*Eriocheir sinensis* intéresse les différences de teneur en acides aminés, en particulier en phénylalanine, qui manque dans l'eau douce. La concentration de la phénylalanine est de l'ordre de 50 p. 100. La composition des constituants inorganiques osmotiquement actifs est également étudiée.

Di

C'est donc par un mécanisme de compensation des concentrations des constituants osmotiquement actifs de l'oxyde de triméthylamine et de la taurine, non identifiés, sont, lors de l'abaissement cryoscopique de mer, accrues jusqu'à atteindre des variations de mouvements d'eau entre cellules. (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1956).

Si nous considérons, dans la composition des constituants osmotiquement actifs, la manière la plus efficace à l'abaissement cryoscopique, en première place le sodium, l'ensemble des acides aminés (la lysine, la glutamine, le glutamique total, la proline et l'arginine) sont ceux qui montent en teneur dans l'eau de mer. L'oxyde de triméthylamine

otiquement actifs des fibres
aux vivants dans l'eau de
vant dans l'eau douce.
kilo d'eau

E ₁	E ₂
+ 77.1	+122.3
+ 72.3	+105.5
+102.2	+ 48.6
- 3.6	+ 6.0
+ 13.2	+ 16.1
+261.2	+298.5
+ 29.0	+ 53.8
+ 19.3	+ 18.2
+ 6.8	+ 8.1
+ 21.8	+ 17.9
+ 26.8	+ 51.5
+ 3.2	+ 2.2
+ 3.9	+ 3.7
+ 12.1	+ 4.2
± 0	± 0
+ 19.1	+ 19.0
+ 2.4	+ 3.7
+ 12.8	+ 10.9
± 0	± 0
+ 8.1	+ 6.9
165.3	200.1
- 0.5	+ 7.2
+ 24.0	+ 30.5
- 2.6	- 4.7
+ 79.2	+ 42.6
526.6	574.2..
529	529

TABLEAU VI.

Fibres musculaires d'Eriocheir sinensis. Effecteurs de la variation de l'abaissement cryoscopique (Δ) lors du passage de l'eau douce à l'eau de mer.

	E ₁	E ₂
Variation du Δ	0.99	0.99
Variation du Δ due aux éléments inorganiques	0.49	0.56
Variations du Δ due aux acides aminés dosés	0.31	0.37
Variation du Δ due à l'oxyde de triméthylamine	0.04	0.06
Variation du Δ due à l'azote indéterminé	0.15	0.08
Variation totale du Δ	0.99	1.07

(DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1955). Ce changement de concentration intéresse les différents acides aminés dosés, sauf la phénylalanine, qui manque dans le muscle d'Eriocheir. L'augmentation de la concentration en oxyde de triméthylamine est de l'ordre de 50 p. 100. La concentration globale des constituants inorganiques osmotiquement actifs est plus que doublée.

Discussion

C'est donc par un mécanisme actif de régulation que les concentrations des constituants inorganiques, des acides aminés, de l'oxyde de triméthylamine et des constituants azotés restant non identifiés, sont, lorsque le crabe chinois est adapté à l'eau de mer, accrues jusqu'à atteindre une valeur qui « s'oppose aux mouvements d'eau entre cellules et milieu intérieur, qui résulteraient des variations de concentration de ce dernier » (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1956).

Si nous considérons, dans le tableau V, quels sont les constituants osmotiquement actifs dont l'incrément contribue de la manière la plus efficace à l'ajustement, nous devons mettre en première place le sodium, le potassium et le chlorure. Dans l'ensemble des acides aminés, l'alanine, le glyocolle, l'acide glutamique total, la proline et l'arginine (y compris la phospho-arginine) sont ceux qui montrent l'incrément le plus marqué, celui de l'oxyde de triméthylamine étant du même ordre de grandeur.

L'accroissement d'activité osmotique des substances organiques est du même ordre de grandeur que celui des constituants inorganiques.

L'augmentation de la concentration des constituants inorganiques relève du jeu des échanges de ces constituants entre la cellule et le plasma, au niveau de la membrane cellulaire. La teneur de la cellule en sodium et en potassium est réglée activement par le mécanisme d'échange avec le milieu intérieur, et la concentration en chlorure en découle passivement.

En ce qui concerne le mécanisme de l'augmentation de concentration des acides aminés, plusieurs hypothèses peuvent être proposées. Nous les considérerons dans un prochain travail.

Le rôle osmorégulateur intracellulaire des acides aminés a été mis en évidence chez une série d'autres espèces d'Invertébrés euryhalins : *Carcinus mænas* (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1956 ; SHAW, 1958), *Astacus fluviatilis* (DUCHÂTEAU-BOSSON et FLORKIN, 1961), *Leander serratus* et *Leander squilla* (JEUNIAUX, BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN, 1961), *Arenicola marina* (DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1961), *Nereis diversicolor* et *Perinereis cultrifera* (JEUNIAUX, DUCHÂTEAU-BOSSON et FLORKIN, 1961).

Quant à l'oxyde de triméthylamine, son intervention dans la régulation osmotique intracellulaire de *Carcinus mænas* a été montrée par SHAW (1958).

Le relevé des constituants osmotiques des fibres musculaires d'*Eriocheir* vivant dans l'eau de mer peut être comparé à ceux établis, dans les mêmes conditions de milieu extérieur, et par conséquent pour une concentration d'environ 1000 osmoles par kilo d'eau, au sujet des muscles de *Carcinus mænas* (SHAW, 1954) et de *Nephrops norvegicus* (ROBERTSON, 1961), et de l'axoplasme des fibres nerveuses géantes de *Loligo pealei* (DEFFNER et HAFTER, 1960).

Si on reste dans le cadre des muscles de Crustacés, la composante inorganique apparaît comme relativement plus importante chez *Eriocheir* que chez *Carcinus* et *Nephrops*. Ceci devrait être néanmoins vérifié, étant donné que les valeurs figurant dans le présent mémoire ont été calculées en admettant que nos échantillons n'étaient pas contaminés par du sang ou du liquide

extracellulaire, notion qui ne peut être mise en évidence que sur des échantillons de muscles.

Quant à la composition globale en acides aminés, elle est semblable que chez *Carcinus* et *Nephrops*. L'oxyde de triméthylamine est présent dans les deux espèces.

Nous sommes particulièrement intéressés par les constituants azotés non protéiques du muscle abdominal de *Eriocheir* (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1955). La taurine, l'oxyde de triméthylamine existent à des concentrations élevées dans l'axoplasme du homard. Le « pattern » de la composition est semblable dans les deux espèces, la teneur étant un peu plus élevée chez *Eriocheir* pour la taurine et la proline. La concentration en proline est plus élevée que dans le muscle de *Loligo*. Le « pattern » de la composition en azotés non protéiques est semblable à celui qui a été observé chez *Loligo*. Le glycocolle, la taurine, l'alanine et l'alanine qui forment la majeure partie de l'acide aminé des muscles géants de *Loligo*, de fait, sont les plus actifs où domine l'acide aspartique. Les autres acides aminés figurent aussi parmi les plus actifs.

Les constituants osmotiques sont plus élevés dans les muscles de crabes que dans ceux de *Loligo* à l'eau douce et à l'eau de mer. La composition organiques et des constituants inorganiques dans les deux cas, de la même manière, la composante osmotique est plus élevée.

Quand les animaux sont en eau douce, la composante osmotique est plus élevée à un niveau qui, en dépit de

extracellulaire, notion reposant sur le fait que nous n'avons pas pu mettre en évidence un « espace d'inuline » dans nos échantillons de muscles.

Quant à la constituante osmotique organique, la concentration globale en acides aminés libres est plus faible chez *Eriocheir* que chez *Carcinus* et *Nephros*, alors que la concentration de l'oxyde de triméthylamine est du même ordre chez les trois espèces.

Nous sommes particulièrement informés quant au détail des constituants azotés non protéiques dans le cas particulier du muscle abdominal de *Homarus vulgaris* (CAMIEN, SARLET, DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1951; KERMACK, LEES et WOOD, 1955). La taurine, l'oxyde de triméthylamine et la bêtaïne existent à des concentrations moins élevées dans le muscle d'*Eriocheir* vivant dans l'eau de mer, que dans celui du homard. Le « pattern » de la composante aminoacide est très semblable dans les deux cas, la somme des acides aminés libres étant un peu plus élevée chez le homard, de même que la concentration en proline. Le « pattern » d'ensemble des constituants azotés non protéiques manifeste des similitudes qui l'oppose à celui qui a été observé dans l'axoplasme des fibres géantes de *Loligo*. Le glyco-colle, la proline, l'arginine, l'acide glutamique et l'alanine qui forment la part importante de la composante aminoacide des muscles de Crustacés sont, dans le cas des fibres géantes de *Loligo*, de faibles constituants de cette composante, où domine l'acide aspartique. L'acide iséthionique et le glycérol y figurent aussi parmi les principaux constituants osmotiquement actifs.

Résumé

Les constituants osmotiquement actifs ont été déterminés dans les muscles de crabes chinois (*Eriocheir sinensis*) adaptés à l'eau douce et à l'eau de mer. La somme des constituants organiques et des constituants inorganiques dosés rend compte, dans les deux cas, de la totalité ou de la presque totalité de la composante osmotiquement active.

Quand les animaux sont transférés de l'eau douce à l'eau de mer, la composante osmotiquement active du muscle s'élève à un niveau qui, en dépit de la forte augmentation de concentration

du sang, empêche que le degré d'hydratation des cellules musculaires soit modifié en proportion. La faible modification d'hydratation ne rend nullement compte des variations intracellulaires de la concentration des constituants osmotiquement actifs. Parmi ces derniers, la taurine et la glyco-colle-bétaïne ne montrent pas d'augmentation de concentration, tandis que les incréments du sodium, du potassium, du chlorure, de l'alanine, du glyco-colle, de l'acide glutamique total, de la proline, de l'arginine (y compris la phosphoarginine), et de l'oxyde de triméthylamine contribuent de manière importante à l'ajustement. La comparaison du « pattern » de la composante osmotiquement active des muscles d'*Eriocheir* vivant dans l'eau de mer avec celui des muscles de *Carcinus mænas*, de *Nephrops norvegicus* et de *Homarus vulgaris* révèle de grandes similitudes ; par contre, il diffère essentiellement de celui de l'axoplasme des fibres géantes de *Loligo pealei*.

BIBLIOGRAPHIE

- BRIGGS, A. P. (1924). — *J. biol. Chem.*, **59**, 255.
 CAMIEN, M. N., SARLET, H., DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1951). — *J. biol. Chem.*, **193**, 881.
 CHINARD, F. P. (1952). — *J. biol. Chem.*, **199**, 91.
 DEFFNER, G. G. J. et HAFTER, R. E. (1960). — *Biochim. Biophys. Acta*, **42**, 200.
 DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1955). — *Arch. internal. Physiol. Bioch.*, **63**, 251.
 DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1956). — *J. de Physiol.*, **8**, 520.
 DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *Comp. Biochem. Physiol.*, **3**, 245.
 DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internal. Physiol. Bioch.*, **69**, 30.
 FENN, W. O. et COBB, D. M. (1934). — *J. gen. Physiol.*, **17**, 629.
 FOCHT, R. L., SCHMIDT, F. H. et DOWLING, B. B. (1956). — *J. of agricult. and food Chem.*, **4**, 546.
 JEUNIAUX, Ch. BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1961). — *Cah. de Biol. Mar.*, **2**, 373.
 JEUNIAUX, Ch., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *J. of Bioch. (Jap.)*, **49**, 527.
 KAHANE, E. (1930). — *Bull. Soc. Chim.*, **47**, 382.
 KERMACK, W. O., LEES, H. et WOOD, J. D. (1955). — *Bioch. J.*, **60**, 424.
 KONOSU, S. et KASAI, E. (1961). — *Bull. Jap. Soc. Scient. Fisheries*, **27**, 194.
 LAMBRECHTS, A. et DELTOMBE, J. (1941). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **23**, 411.
 ROBERTSON, J. D. (1961). — *J. exp. Biol.*, **38**, 707.
 ROE, J. H., EPSTEIN, J. H. et GOLDSTEIN, N. P. (1949). — *J. biol. Chem.*, **174**, 839.
 SCHOLLES W. (1933). — *Zeitschr. f. vergl. Physiol.*, **19**, 522.
 SHAW, J. (1958). — *J. exp. Biol.*, **35**, 920.
 VAN SLYKE, D. D. et SENDROY, J. (1929). — *J. biol. Chem.*, **84**, 217.
 WEINBACH, A. P. (1935). — *J. biol. Chem.*, **110**, 95.
 WILDE, W. S. (1939). — *J. biol. Chem.*, **128**, 309.

EXCERPT

Les EXCERPTA ME
 extensif d'extraits des
 mmense de la médecine
 20 sections qui font pa
 formant une document

PHYSIOLOGY, BI

Environ 135

ABSTRA

Publicati

B

Nous désirons vous rapp
 pose pour la traduction r
 Nous vous prions de nou
 recevrez un relevé du prix

EXCER

119-123, Herengracht
 AMSTERDAM (Hollande)