

## LES CONSTITUANTS OSMOTIQUEMENT ACTIFS DES MUSCLES ET LEUR CONTRIBUTION A LA REGULATION ISOSMOTIQUE INTRACELLULAIRE CHEZ *LIMULUS POLYPHEMUS*

S. BRICTEUX-GREGOIRE, GH. DUCHÂTEAU-BOSSON,  
CH. JEUNIAUX et M. FLORKIN

Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège, Liège, Belgium

(Reçu le 9 juin 1966)

**Abstract**—1. The chemical composition of the blood and of the intracellular medium of the muscles has been studied in the king crab (*Limulus polyphemus*) and compared with that of marine decapods (Crustaceans) and of a scorpion, *Androctonus australis*.

2. The blood of *Limulus* contains only very small amounts of free amino acids. The amino-acid composition of the muscles of *Limulus* differs from that of decapods, but is similar to that of the scorpion, with respect to its lower concentration and to the relative proportions of free arginine and free glycine.

3. The intracellular osmolar effectors in *Limulus* are principally dialysable nitrogenous compounds, other than amino acids and taurine. These unidentified substances play an important role in the isosmotic intracellular regulation which takes place when *Limulus* is adapted to brackish water (40% sea water). This is another difference between *Limulus* and marine decapods; the latter show a regulation in which free amino acids are among the most important effectors.

### INTRODUCTION

CHEZ les Invertébrés marins qui ont été étudiés sous ce rapport, les valeurs les plus élevées de la concentration intracellulaire des acides aminés libres ont été relevées, au niveau des muscles, chez les Crustacés, tels que le homard (Camien *et al.*, 1951), *Cancer pagurus* (Duchâteau & Florkin, 1954), *Carcinus maenas* (Duchâteau *et al.*, 1959), *Eriocheir sinensis* (Duchâteau & Florkin, 1954; Bricteux-Grégoire *et al.*, 1962), *Leander serratus* et *L. squilla* (Jeuniaux *et al.*, 1961). Dans le but de reconnaître si le type de composition de l'ensemble des effecteurs osmotiques intracellulaires auquel les acides aminés contribuent pour une part plus importante que chez d'autres Invertébrés marins, Vers ou Mollusques, est un caractère des Crustacés décapodes, ou bien un caractère général des Arthropodes marins, les constituants osmotiquement actifs et en particulier les acides aminés libres ont été déterminés au niveau des muscles de *Limulus polyphemus*, un Arachnomorphe (Chélicérate) marin. Les variations de certains de ces constituants osmotiquement actifs ont été aussi étudiés au cours de l'adaptation de la limule à l'eau saumâtre, dans une autre série d'expériences.

## MATERIEL ET METHODES

Les analyses dont nous présentons les résultats dans le présent travail ont porté sur trois séries d'animaux: les deux premières séries ont été étudiées en 1957-1958, la troisième série en 1961.

## 1. Première et deuxième série

(a) *Matériel biologique.* Les limules constituant la série 1 avaient été reçues de Woods Hole (U.S.A.), le 8 décembre 1957; elles avaient aussitôt été placées dans un aquarium d'eau de mer (Golfe de Gascogne) et elles étaient nourries de moules. Le sang, l'hépatopancréas et les muscles abdominaux commandant l'appendice caudal ont été prélevés le 18 décembre 1957. Les autres échantillons de muscles de l'abdomen et du thorax ont été prélevés le 17 février 1958, sur des individus qui séjournaient dans l'aquarium d'eau de mer depuis le 8 décembre 1957.

(b) *Prélèvement du sang et des tissus.* Le sang a été prélevé par incision de la membrane intersegmentaire entre l'abdomen et le thorax. On y a observé une coagulation cellulaire. Les différents tissus ont été prélevés, essorés sur papier filtre sans lavage préalable et pesés aussitôt. Ils ont été jetés dans l'eau bouillante pour inactiver les enzymes, puis broyés au mixer et dialysés. Les dialysats ont été hydrolysés en vue du dosage microbiologique des acides aminés et du dosage de la taurine par chromatographie sur Dowex 50 selon la méthode de Moore & Stein. Une autre portion a été séchée jusqu'à poids constant (à 105°C) (voir Duchâteau & Florkin, 1954) pour déterminer leur teneur en eau. Le dosage des éléments inorganiques a été effectué sur des tissus prélevés à Woods Hole (U.S.A.) en 1952 (deuxième série) et séchés sur place (à 105°C) jusqu'à poids constant. Les méthodes de dosage sur ces tissus incinérés à 650°C sont décrites dans le mémoire de Bricteux-Grégoire *et al.*, 1962.

## 2. Troisième série

Cette troisième série de limules a été utilisée, en 1961, pour l'étude des variations de concentration des substances organiques au cours de l'adaptation à l'eau saumâtre.

(a) *Matériel biologique.* Les limules étudiées étaient des individus femelles, de petite taille [longueur moyenne (appendice caudal inclus) 15 cm]. Elles avaient été récoltées en septembre 1961 à Woods Hole (U.S.A.) et expédiées en Europe, par avion. Dès leur réception, les limules ont été transférées dans un aquarium d'eau de mer, où on les a conservées et nourries de moules pendant 5 jours, avant la mise en expérience.

(b) *Adaptation à l'eau saumâtre.* Au cours de ces expériences, nous avons employé de l'eau de mer "artificielle", composée d'après Lyman & Fleming (1940) et ajustée au pH 7.1 (abaissement cryoscopique, -2.09°C).

Six limules ont été soumises à une dessalure progressive: elles ont été transférées, endéans 7 jours, successivement de l'eau de mer à des mélanges contenant 90, 80, 70, 60, 50 et enfin 40% d'eau de mer. Avant le prélèvement du sang et des tissus, les limules ont été conservées pendant 7 jours dans ce dernier mélange,

renouvelé tous les deux jours. Les animaux ont eu un comportement normal pendant toute l'expérience. Les animaux sont demeurés sans altération pendant cette même période.

Deux limules ont été étudiées dans un milieu contenant 20% d'eau saumâtre et 80% d'eau de mer. Un des individus a été placé dans un milieu à 30% d'eau saumâtre puis à 40% d'eau saumâtre. Les animaux ont été ramenés progressivement à l'eau de mer pendant un mois après ces manipulations.

(c) *Prélèvement du sang.* Le sang a été prélevé au centre de l'articulation du thorax et de l'abdomen (opisthosoma) où on a recueilli le sang dans un tube à essai cryoscopique et le dosage a été effectué.

Les bords de la partie ventrale du thorax ont été lavés au moyen de ciseaux, essorés progressivement, au fur et à mesure, c'est-à-dire au niveau de l'opisthosoma.

On a isolé et prélevé la face interne du céphalothorax, les yeux ont été lavés par agitation dans l'eau de mer pure pour les teneur en taurine (saumâtre) et essorés sur papier filtre sans lavage préalable. Les enzymes par ébullition pendant 10 minutes.

(d) *Dosage des acides aminés.* Les acides aminés ont été dosés sur les dialysats par IR-120 selon la technique de Moore & Stein.

(1) La première série a été étudiée dans le Tableau 1 (valeurs exprimées en mg/100 g de tissu frais) et dans le Tableau 2 (valeurs exprimées en mg/100 g d'eau en tenant compte de l'eau contenue dans les animaux vivants).

La teneur en acides aminés a été déterminée comme chez les Crustacés (Grégoire *et al.* 1963).

La teneur en acides aminés a été déterminée entre 720 et 1136 mg/100 g de tissu frais. La concentration en acides aminés est plus faible que chez les Crustacés.

ans le présent travail ont été étudiées en

érie 1 avaient été reçues de aussitôt été placées dans étaient nourries de moules. commandant l'appendice es échantillons de muscles 1958, sur des individus qui décembre 1957.

prélevé par incision de la rax. On y a observé une élevés, essorés sur papier jetés dans l'eau bouillante dialysés. Les dialysats ont acides aminés et du dosage la méthode de Moore & constant (à 105°C) (voir ur en eau. Le dosage des és à Woods Hole (U.S.A.) C) jusqu'à poids constant. 0°C sont décrites dans le

1, pour l'étude des varia- ours de l'adaptation à l'eau

des individus femelles, de us) 15 cm]. Elles avaient ) et expédiées en Europe, sferées dans un aquarium les pendant 5 jours, avant

expériences, nous avons Lyman & Fleming (1940) °C).

ssive: elles ont été trans- à des mélanges contenant rélevement du sang et des dans ce dernier mélange,

renouvelé tous les deux jours. Au cours de cette période, les limules ont montré un comportement normal; elles n'ont pas été alimentées. Quatre limules témoins sont demeurées sans alimentation, dans de l'eau de mer artificielle non diluée, pendant cette même période.

Deux limules ont été adaptées ensuite à une dessalure plus poussée. Dans un milieu contenant 20% d'eau de mer, on a constaté une turgescence anormale des téguments. Un des individus est mort. L'individu survivant a été ramené à 25, puis à 30% d'eau de mer, où il a été conservé pendant 8 jours. Il a été ensuite ramené progressivement dans de l'eau de mer non diluée, où il était encore en vie un mois après ces manipulations.

(c) *Prélèvement du sang et des tissus.* On a incisé la membrane intersegmentaire, au centre de l'articulation transversale (charnière) entre le céphalothorax (prosoma) et l'abdomen (opisthosoma). Cette incision a été pratiquée au-dessus d'un béccher, où on a recueilli le sang. Celui-ci a été utilisé pour la mesure de l'abaissement cryoscopique et le dosage des acides aminés libres (après dialyse).

Les bords de la partie notale du céphalothorax et de l'abdomen ont été découpés au moyen de ciseaux, et les parties notales des carapaces ont été rabattues progressivement, au fur et à mesure que l'on sectionnait les muscles à leur base, c'est-à-dire au niveau de l'endosternum cartilagineux et des plaques sternales de l'opisthosoma.

On a isolé et prélevé les quatre paires de muscles qui relient l'endosternum à la face interne du céphalothorax, ainsi que les muscles de l'appendice caudal. On les a lavés par agitation dans une solution d'eau de mer isotonique avec le sang (eau de mer pure pour les témoins; eau de mer 40% pour les limules adaptées à l'eau saumâtre) et essorés sur papier filtre. Après pesée du tissu frais, on a inactivé les enzymes par ébullition pendant 10 min.

(d) *Dosage des acides aminés libres et de la taurine.* Les tissus, broyés au mixer, ont été dosés sur les dialysats hydrolysés, par chromatographie sur Amberlite IR-120 selon la technique de Moore, Spackman & Stein (1958).

#### RESULTATS ET DISCUSSION

(1) La première série de limules a été utilisée pour le dosage des acides aminés libres dans le sérum sanguin et dans les muscles. Les résultats sont présentés dans le Tableau 1 (valeurs exprimées en mg d'acides aminés pour 100 ml de sang ou 100 g de tissu frais) et dans le Tableau 2 (mêmes valeurs, exprimées en mMoles/l d'eau en tenant compte de la teneur en eau des muscles, soit 78.4 pour cent, lorsque les animaux vivent en eau de mer).

La teneur en acides aminés libres du sérum sanguin est extrêmement faible, comme chez les Crustacés d'une part et le scorpion d'autre part (Bricteux-Grégoire *et al.* 1963).

La teneur en acides aminés libres au niveau des muscles varie, selon les individus, entre 720 et 1136 mg/100 g de muscles frais; soit entre 62 et 99 mMoles/l d'eau. La concentration en acides aminés libres intracellulaires est donc nettement moindre que chez les Crustacés décapodes marins (*Carcinus maenas*, 3-4 g/100 g

de muscles frais, Duchâteau *et al.*, 1959; *Leander serratus* et *L. squilla*, 2.4 et 2.0 g/100 g, Jeuniaux *et al.*, 1961; *Eriochel sinensis*, 327-354 mMoles/l d'eau, Bricteux-Grégoire *et al.*, 1962), mais elle est comparable à celle observée chez le scorpion *Androctonus australis* (886 mg/100 g de tissus frais, soit 76 mMoles/l d'eau, Bricteux-Grégoire *et al.*, 1963).

TABLEAU 1—*Limulus polyphemus* (SÉRIE I)  
(mg/100 ml ou/100 g de tissu frais)

Acides aminés*	Sérum	Hépto-pancréas	Muscles						
			Abdomen		Abd. + thorax M <sub>3</sub>	Abd.	Thorax	Abd.	Thorax
			M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>					
Alanine	1.4	0	50.8	37.1	27.6	27.0	28.9	19.3	30.5
Arginine	0.8	67.6	562.2	552.9	444.8	468.8	552.5	451.4	418.3
Acide aspartique (total)	1.1	33.2	83.2	79.0	26.9	34.8	38.9	18.1	20.6
Acide glutamique (total)	0.3	108.4	249.6	257.7	89.6	106.3	118.4	76.1	113.7
Glycocolle	±0.0	39.9	27.6	25.4	28.4	25.8	33.5	26.2	26.0
Histidine	0.3	19.8	13.5	14.4	3.7	6.0	5.4	3.7	4.6
Isoleucine	0.4	11.9	6.8	6.2	10.5	19.8	22.6	9.4	11.5
Leucine	0.2	6.5	7.3	4.8	11.2	28.2	32.5	12.5	13.7
Lysine	0.2	28.5	8.5	9.6	9.3	10.8	10.8	6.2	7.6
Méthionine	0.2	3.2	7.0	7.2	8.2	7.8	9.9	9.4	11.5
Phénylalanine	0.2	6.3	7.3	6.5	6.3	8.4	10.8	5.6	7.6
Proline	0.9	30.1	92.4	70.1	94.8	106.3	74.1	56.8	35.9
Thréonine	0.2	6.7	5.1	4.8	9.7	6.6	7.2	8.1	8.4
Tyrosine	0.3	7.5	6.3	5.2	5.2	6.6	8.1	5.0	6.5
Valine	±0	6.3	8.5	7.9	14.2	30.0	33.9	11.9	15.3
Somme	6.5	375.9	1136.1	1088.8	790.4	893.2	987.5	719.7	801.7
Taurine†					316.0				
N Total dialysable		302.9	771.8	816.4	852.1	769.1	848.5	728.9	757.6
N acides aminés dosés					185.3				
N taurine					35.4				
N acides aminés + N taurine					220.7				

\* Dosé par la méthode microbiologique (voir Duchâteau & Florkin, 1954).

† Dosé par chromatographie sur colonne selon Moore & Stein.

N inconnu = N total - (N acides aminés dosés + N taurine) = 852.1 mg - 220.7 mg = 631.4 mg/100 g tissu frais, soit 575.3 mM.

Il convient de souligner que, chez la limule, comme chez le scorpion, l'acide aminé libre dont la concentration intracellulaire est la plus élevée est l'arginine, tandis que chez tous les Crustacés décapodes que nous avons étudiés, c'est le glycocolle qui est, systématiquement, l'acide aminé le plus abondant.

La taurine intracellulaire présente, chez la limule, une concentration du même ordre de grandeur (316 mg/100 g de tissus secs) que celle observée chez le scorpion

(462 mg/100 g), chez *Er* et *L. serratus* (300 et 320

Acides aminés	Sérum
Alanine	0.16
Arginine	0.05
Acide aspartique	0.08
Acide glutamique	0.02
Glycocolle	±0.0
Histidine	0.02
Isoleucine	0.03
Leucine	0.02
Lysine	0.01
Méthionine	0.01
Phénylalanine	0.01
Proline	0.08
Thréonine	0.02
Tyrosine	0.02
Valine	±0.0
Somme	0.53
Taurine	
N total dialysable	
N acides aminés dosés	
N taurine	
N inconnu	

Les valeurs en mMoles/muscles de l'abdomen me

(Muscles, poids

K  
Ca  
Mg  
Cl  
Total

*serratus* et *L. squilla*, 2.4 et  
 , 327-354 mMoles/l d'eau,  
 ble à celle observée chez le  
 rais, soit 76 mMoles/l d'eau,

(462 mg/100 g), chez *Eriocher sinensis* (125-258 mg/100 g) et chez *Leander squilla*  
 et *L. serratus* (300 et 320 mg/100 g).

TABLEAU 2—*Limulus polyphemus* (SÉRIE I)  
 (Muscles, mMoles/l d'eau)

SÉRIE I)  
 a)

Muscles			
Abd.	Thorax	Abd.	Thorax
M <sub>4</sub>		M <sub>5</sub>	
27.0	28.9	19.3	30.5
68.8	552.5	451.4	418.3
34.8	38.9	18.1	20.6
06.3	118.4	76.1	113.7
25.8	33.5	26.2	26.0
6.0	5.4	3.7	4.6
19.8	22.6	9.4	11.5
28.2	32.5	12.5	13.7
10.8	10.8	6.2	7.6
7.8	9.9	9.4	11.5
8.4	10.8	5.6	7.6
06.3	74.1	56.8	35.9
6.6	7.2	8.1	8.4
6.6	8.1	5.0	6.5
30.0	33.9	11.9	15.3
93.2	987.5	719.7	801.7
59.1	848.5	728.9	757.6

Acides aminés	Sérum	Abdomen		Abd. + Thorax	Abd. Thorax	Abd. Thorax		
		M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>		
Alanine	0.16	7.3	5.3	4.0	3.9	4.1	2.8	4.4
Arginine	0.05	41.2	40.5	32.6	34.3	40.5	33.1	30.6
Acide aspartique	0.08	8.0	7.6	2.6	3.3	3.7	1.7	2.0
Acide glutamique	0.02	21.6	22.3	7.8	9.2	10.3	6.6	9.9
Glycocolle	± 0.0	4.7	4.3	4.8	4.4	5.7	4.5	4.4
Histidine	0.02	1.1	1.2	0.3	0.5	0.4	0.3	0.4
Isoleucine	0.03	0.7	0.6	1.0	1.9	2.2	0.9	1.1
Leucine	0.02	0.7	0.5	1.1	2.7	3.2	1.2	1.3
Lysine	0.01	0.7	0.8	0.8	0.9	0.9	0.5	0.7
Méthionine	0.01	0.6	0.6	0.7	0.7	0.8	0.8	1.0
Phénylalanine	0.01	0.6	0.5	0.5	0.6	0.8	0.4	0.6
Proline	0.08	10.2	7.8	10.5	11.8	8.2	6.3	4.0
Thréonine	0.02	0.5	0.5	1.0	0.7	0.8	0.9	0.9
Tyrosine	0.02	0.4	0.4	0.4	0.5	0.6	0.4	0.5
Valine	± 0.0	0.9	0.9	1.5	3.3	3.7	1.3	1.7
Somme	0.53	99.2	93.8	69.6	78.7	85.9	61.7	63.5
Taurine				32.3				
N total dialysable		703.2	743.8	776.3	700.7	773.0	664.1	690.2
N acides aminés dosés				169				
N taurine				32				
N inconnu				575				

Les valeurs en mMoles/l d'eau ont été calculées en utilisant les teneurs en eau des muscles de l'abdomen mesurées dans l'expérience de 1961.

Florkin, 1954).

mg - 220.7 mg = 631.4 mg/100 g

chez le scorpion, l'acide  
 la plus élevée est l'arginine,  
 nous avons étudiés, c'est le  
 plus abondant.  
 une concentration du même  
 observée chez le scorpion

TABLEAU 3 *Limulus polyphemus* (SÉRIE II)  
 (Muscles, poids du résidu sec = 22.1 pour cent du poids de tissu frais)

	mg/100 g	mMoles/l d'eau
	de poids de tissu frais	
K	293.4	96.6
Ca	15.4	4.9
Mg	91.9	49.2
Cl	659.3	238.4
Total		389.1

Si l'on compare, chez la limule, les valeurs en azote aminé, dosé sous forme d'acides aminés et de taurine, et en azote total dialysable, on constate que les substances aminées dosées (acides aminés et taurine) ne représentent qu'un quart environ de l'azote total dialysable. Un fait analogue avait été signalé précédemment dans le cas du scorpion. Chez le crabe chinois *Eriocheir sinensis*, au contraire, l'azote des acides aminés, de la taurine, de l'oxyde de triméthylamine et de la bétaine, représente les trois-quarts de l'azote total dialysable.

Le Tableau 4 résume la question de la contribution des diverses substances à la pression osmotique intracellulaire. Il apparaît clairement que les acides aminés et la taurine jouent un rôle modeste en tant qu'effecteurs osmolaires, tandis que c'est au niveau des substances azotées dialysables indéterminées qu'il faut rechercher les effecteurs osmolaires les plus importants.

TABLEAU 4—CONTRIBUTIONS À L'ABAISSEMENT CRYOSCOPIQUE INTRACELLULAIRE (SÉRIES I ET II)

	(°C)
$\Delta$ éléments inorganiques	-0.73
$\Delta$ acides aminés + taurine	-0.19
$\Delta$ N inconnu	-1.08
$\Delta$ total	-2.00
$\Delta_e$	-2.11

(2) La troisième série de limules, reçues en 1961, a été utilisée pour étudier la contribution des divers effecteurs osmolaires intracellulaires à la régulation isosmotique intracellulaire, au cours du passage de l'eau de mer à l'eau saumâtre.

Les limules s'adaptent très bien à l'eau saumâtre (40% d'eau de mer, soit  $\Delta_o = 0.79^\circ\text{C}$ ). Le milieu extracellulaire (sang) n'est cependant pas l'objet d'une régulation anisosmotique: dans l'eau saumâtre ( $-0.79^\circ\text{C}$ ), la valeur de l'abaissement cryoscopique du sang des limules était de  $0.85^\circ\text{C}$ . La seule régulation osmotique présentée au cours de cette adaptation se situe donc au niveau des cellules, car la teneur en eau des muscles est à peine plus élevée dans l'eau saumâtre que dans l'eau de mer (cf. Tableau 5).

On compare, dans le Tableau 5, les concentrations intracellulaires de 15 acides aminés libres et de la taurine, dans les muscles de limules vivant dans l'eau de mer, ou adaptées à l'eau saumâtre. Les concentrations intracellulaires en acides aminés et en taurine sont nettement plus basses dans l'eau saumâtre que dans l'eau de mer, sauf en ce qui concerne l'arginine, dont la concentration est plus élevée en eau saumâtre. La participation des acides aminés libres intracellulaires et de la taurine à la régulation isosmotique intracellulaire est donc évidente, mais de très faible portée: la variation de l'abaissement cryoscopique dûe à la diminution de concentration de ces molécules est seulement de  $-0.04^\circ\text{C}$ .

C'est au niveau des substances azotées dialysables de nature indéterminée que l'on observe la plus forte variation de concentration intracellulaire. La

variation de l'abaissement de ces substances est égale

TABLEAU 5—Limule

Eau (pour cent)  
Acides aminés libres  
Alanine  
Arginine  
Acide aspartique (total)  
Acide glutamique (total)  
Glycocolle  
Histidine  
Isoleucine  
Leucine  
Lysine  
Phénylalanine  
Proline  
Sérine  
Thréonine  
Tyrosine  
Valine

Somme

Taurine  
Oxyde de triméthylamine  
N total dialysable  
N aminé (ninhydrine)  
N acides aminés dosés  
N taurine  
N inconnu

(a)  $\Delta$  acides aminés + taurine  
(b)  $\Delta$  N inconnu  
(c)  $\Delta$  total - (a) - (b)

Néanmoins, il apparaît qu'il faut rechercher les effecteurs osmolaires de la régulation isosmotique en effet que l'abaissement cryoscopique des substances non azotées dans l'eau saumâtre.

aminé, dosé sous forme  
ble, on constate que les  
représentent qu'un quart  
été signalé précédemment  
*seur sinensis*, au contraire,  
triméthylamine et de la  
ble.

des diverses substances  
airement que les acides  
qu'effecteurs osmolaires,  
ables indéterminées qu'il  
nts.

#### QUE INTRACELLULAIRE

été utilisée pour étudier la  
lulaires à la régulation  
de mer à l'eau saumâtre.  
40% d'eau de mer, soit  
endant pas l'objet d'une  
(c), la valeur de l'abaisse-  
C. La seule régulation  
tue donc au niveau des  
levée dans l'eau saumâtre

intracellulaires de 15  
de limules vivant dans  
rations intracellulaires en  
dans l'eau saumâtre que  
dont la concentration est  
des aminés libres intra-  
intracellulaire est donc  
sement cryoscopique dû  
lement de  $-0.04^{\circ}\text{C}$ .  
de nature indéterminée  
tion intracellulaire. La

variation de l'abaissement cryoscopique due à la diminution de concentration de ces substances est égale à  $-0.36^{\circ}\text{C}$ .

TABLEAU 5—*Limulus polyphemus* (SÉRIE III) DANS L'EAU DE MER (=  $2.09^{\circ}\text{C}$ )  
ET DANS L'EAU SAUMÂTRE (=  $-0.79^{\circ}\text{C}$ )

	Sérum			Muscle	
	Eau de mer (mMoles/l de sérum)	Eau saumâtre		Eau de mer	Eau saumâtre
Eau (pour cent)				78.4	82.9
Acides aminés libres					
Alanine	0.037	0.123	0.057	3.44	1.49
Arginine	0.046		0.032	12.67	20.29
Acide aspartique (total)	0.085	0.184	0.099	4.12	1.0
Acide glutamique (total)	0.115	0.275	0.179	3.81	2.13
Glycocolle	0.08	0.236	0.125	4.93	2.41
Histidine				1.15	0
Isoleucine	0.028	0.088	0.033	0.68	0.12
Leucine	0.039	0.088	0.035	1.07	0.16
Lysine	0.112		0.098	1.22	0.66
Phénylalanine	0	0.054	0.013	0.85	0.15
Proline	0	0	0	9.42	0.44
Sérine	0.086	0.192	0.094	1.40	0.52
Thréonine	0.034	0.098	0.039	1.50	0.44
Tyrosine	0	0.044	0.019	0.49	0.04
Valine	0.044	0.135	0.048	1.85	0.19
Somme	0.706	1.517	0.871	48.60	30.04
Taurine	0.037	0.047	0.055	15.41	10.62
Oxyde de triméthylamine	0			0	
N total dialysable				462	271
N aminé (minhydrine)				123	71
N acides aminés dosés				90.2	95.0
N taurine				15.4	10.6
N inconnu				356	165
(a) $\Delta$ acides aminés + taurine				$-0.12^{\circ}\text{C}$	$-0.08^{\circ}\text{C}$
(b) $\Delta$ N inconnu				$-0.67^{\circ}\text{C}$	$-0.31^{\circ}\text{C}$
(c) $\Delta$ total-(a)-(b)				$-1.30^{\circ}\text{C}$	$-0.40^{\circ}\text{C}$

Néanmoins, il apparaît que c'est surtout parmi les substances non azotées qu'il faut rechercher les effecteurs osmolaires qui jouent le rôle principal au cours de la régulation isosmotique intracellulaire. Le Tableau 5 (dernière ligne) montre en effet que l'abaissement cryoscopique intracellulaire dû aux substances dialysables non azotées passe de  $-1.30^{\circ}\text{C}$  dans l'eau de mer à  $-0.40^{\circ}\text{C}$  dans l'eau saumâtre.

## CONCLUSION

La limule (*Limulus polyphemus*), Chélicérate Mérostome, est avec les Panto-podes le seul Arthropode marin actuel qui n'appartienne pas à la classe des Crustacés. Par la composition de ses muscles en acides aminés libres, en taurine et en autres substances azotées dialysables, la limule se rapproche bien plus du scorpion (*Androctonus australis*) que des Crustacés décapodes marins. En effet, la contribution des acides aminés libres intracellulaires à l'abaissement cryoscopique intracellulaire est relativement peu importante, ce rôle étant joué par des molécules azotées dialysables actuellement indéterminées. Comme le scorpion, la limule diffère des Crustacés marins par la haute teneur en arginine libre intracellulaire et par une teneur en glyco-colle beaucoup plus basse.

La limule est euryhaline et capable de survivre pendant au moins 15 jours dans l'eau saumâtre contenant 40% d'eau de mer. La pression osmotique du sang s'ajuste rapidement au niveau de celle du milieu extérieur; il n'y a donc pas de régulation anisosmotique extracellulaire. L'euryhalinité de la limule dépend exclusivement d'un mécanisme de régulation isosmotique intracellulaire auquel les acides aminés ne prennent qu'une part très faible, contrairement à ce qu'on observe chez les Crustacés décapodes.

## REFERENCES

- BRICTEUX-GRÉGOIRE S., DUCHÂTEAU-BOSSON GH., JEUNIAUX CH. & FLORKIN M. (1962) Constituants osmotiquement actifs des muscles du crabe chinois *Eriocheir sinensis* adapté à l'eau douce ou à l'eau de mer. *Archs int. Physiol. Biochim.* **70**, 273-286.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE S., DUCHÂTEAU-BOSSON GH., JEUNIAUX CH., SCHOFFENIELS E. & FLORKIN M. (1963) Constituants osmotiquement actifs du sang et des muscles du scorpion *Androctonus australis* L. *Archs int. Physiol. Biochim.* **71**, 393-400.
- CAMIEN M. N., SARLET H., DUCHÂTEAU GH. & FLORKIN M. (1951) Non-protein amino acids in muscle and blood of marine and fresh water Crustacea. *J. biol. Chem.* **193**, 881-885.
- DUCHÂTEAU GH. & FLORKIN M. (1954) Types de composition du pool des acides aminés non protéiques des muscles. *Archs int. Physiol.* **62**, 487-504.
- DUCHÂTEAU GH., FLORKIN M. & JEUNIAUX CH. (1959) Composante amino-acide des tissus, chez les Crustacés—I. Composante amino-acide des muscles de *Carcinus maenas* L. lors du passage de l'eau de mer à l'eau saumâtre et au cours de la mue. *Archs int. Physiol. Biochim.* **67**, 489-500.
- JEUNIAUX CH., BRICTEUX-GRÉGOIRE S. & FLORKIN M. (1961) Contribution des acides aminés libres à la régulation osmotique intracellulaire chez deux Crustacés euryhalins, *Leander serratus* F. et *Leander squilla* L. *Cah. Biol. mar.* **2**, 373-379.
- LYMAN J. & FLEMING R. (1940) Composition of sea water. *J. mar. Res.* **3**, 134.
- MOORE S., SPACKMAN D. H. & STEIN W. H. (1958) Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. An improved system. *Analyt. Chem.* **30**, 1185-1190.

ARCHIV  
PHYARCHIV  
fondées e

Z.

LES CATIONS  
LARVAIRJ. BEA  
(Université de L  
Systématique

VAIL

Titre abrégé pour  
Pub

84701