

Reçu le 25 juin 1964.

### CONSTITUANTS OSMOTIQUEMENT ACTIFS DES MUSCLES ADDUCTEURS DE *GRYPHEA ANGULATA* ADAPTÉE A L'EAU DE MER OU A L'EAU SAUMÂTRE

PAR

S. BRICTEUX-GRÉGOIRE, Gh. DUCHÂTEAU-BOSSON, Ch. JEUNIAUX  
et M. FLORKIN

(Institut Léon Fredericq, Biochimie; Université de Liège)

#### Introduction

L'huître portugaise *Gryphaea angulata* LAMARCK est une espèce relativement euryhaline (litter. : voir KORRINGA, 1952) bien que ne présentant pas de régulation anisomotique du sang. Il existe d'autres espèces euryhalines bien que pœcilosmotiques et, chez celles qui ont été étudiées, on a pu mettre en évidence une régulation isosmotique intracellulaire, ajustant plus ou moins efficacement la concentration intracellulaire au niveau de celle du milieu intérieur (*Arenicola marina*, DUCHÂTEAU *et al.*, 1961; *Perinereis cultrifera*, JEUNIAUX *et al.*, 1961; *Mytilus edulis*, POTTS, 1958; BRICTEUX-GRÉGOIRE *et al.*, 1964 a; *Asterias rubens*, JEUNIAUX *et al.*, 1962; *Ostrea edulis*, BRICTEUX-GRÉGOIRE *et al.*, 1964 b). Le présent travail est consacré à la mise en évidence d'une régulation isosmotique intracellulaire chez *Gryphaea angulata*, et à l'identification des effecteurs de cette régulation.

#### Matériel et Méthodes

Les huîtres provenaient des parcs de culture de la région d'Arcachon. Elles ont été divisées en deux lots : l'un conservé dans de l'eau de mer aérée, l'autre amené progressivement, par étapes successives, dans un mélange d'eau de mer et d'eau douce à volumes égaux (eau de mer 50 %). Elles ont été utilisées après 24 heures d'adaptation à ce dernier milieu.

*Détermination de l'espace extracellulaire.*

Il est plus malaisé d'injecter des *Gryphaea* que des *Ostrea*, en raison de la forme et de l'épaisseur de la coquille. La technique utilisée précédemment (BRICTEUX-GRÉGOIRE *et al.*, 1964 *b*) n'a donc pas été employée. L'espace extracellulaire a été mesuré sur des préparations musculaires obtenues de la manière suivante.

La coquille est fracturée au moyen de fortes pinces coupantes, de manière à isoler les deux portions des valves ventrale et dorsale auxquelles les muscles adducteurs sont fixés. Le manteau, les branchies et les autres organes sont soigneusement extraits sans léser les muscles, qui sont mis à nu sur leur pourtour. La préparation musculaire ainsi obtenue est lavée dans une solution saline isotonique (eau de mer ou eau de mer 50 %, selon les cas) et plongée dans une même solution saline contenant de l'inuline (5 g/litre). L'incubation dans cette solution d'inuline, continuellement aérée, se prolonge pendant 16 à 18 heures, à 10° C. Après ce laps de temps, les muscles ont gardé leurs propriétés contractiles. Ils sont séparés des coquilles, partagés en portion « blanche » (contraction lente) et portion « jaune » (contraction rapide), lavés dans une solution saline isotonique, essorés et broyés au moyen d'un homogénéiseur « microturax ». La teneur en inuline des broyats de fibres musculaires et des solutions d'inuline ayant servi à l'incubation des muscles est mesurée par la méthode de ROE *et al.* (1949).

*Détermination de la teneur des fibres musculaires en constituants inorganiques et en constituants azotés dialysables.*

Les muscles adducteurs ont été séparés en portion « lente » (blanche) et « rapide » (jaune). La préparation des broyats de fibres musculaires, le dosage du chlore, du sodium, du potassium et du calcium, ainsi que le dosage de l'azote total, de la glyco-colle-bétaïne et des acides aminés libres ont été décrits dans le travail concernant *Ostrea edulis* (voir BRICTEUX-GRÉGOIRE *et al.*, 1964 *b*).

**Résultats**

Le tableau I donne, dans les deux premières lignes, la valeur de l'abaissement cryoscopique du sang des huîtres conservées

TABLEAU I. — Constituants inorganiques de *Ostrea edulis* angulata dans l'eau de mer (M) et dans l'eau de mer diluée (M/2).  
M :  $\Delta = -2.020$  C; Cl 2388, K 514.8, Na 492.2, Ca 7.4, Mg 246.1.  
M/2 :  $\Delta = -1.002$  C; Cl 1194, K 257.4, Na 246.1, Ca 3.7, Mg 123.0.

	mg p. 100	
	muscle jaune	
	M	M/2
Cl .....	552.8	178.3
K .....	413.5	315.2
Na .....	368.9	130.4
Ca .....	26.7	13.3

  

	p. 100 g du	
	muscle jaune	
	M	M/2
Résidu sec .....	26.3	18.4
Eau .....	73.7	81.6
Espace « inuline » .....	7.1	4.1

  

	muscle jaune	
	M	M/2
Espace « inuline » (pour 100 g d'eau totale)	9.6	5.1

en eau de mer (M) et ad  
ainsi que la composition in  
Il présente d'autre part le  
niques des muscles adducte

TABLEAU I. — Constituants inorganiques des fibres musculaires de *Gryphaea angulata* dans l'eau de mer (M) et dans l'eau de mer diluée deux fois (M/2).  
 M :  $\Delta = -2^{\circ}20$  C; Cl 2388, K 57.8, Na 1132, Ca 32.5 mg p. 100 ml; Cl 672.7, K 14.8, Na 492.2, Ca 8.1 mOsm p. litre.  
 M/2 :  $\Delta = -1^{\circ}02$  C; Cl 1194, K 28.9, Na 566, Ca 16.2 mg p. 100 ml; Cl 336.3, K 7.4, Na 246.1, Ca 4.1 mOsm p. litre.

	mg p. 100 g de tissu frais				mOsm p. kilo d'eau de fibre musculaire			
	muscle jaune		muscle blanc		muscle jaune		muscle blanc	
	M	M/2	M	M/2	M	M/2	M	M/2
Cl .....	552.8	178.5	1014.7	428.8	162.3	44.7	322.4	130.1
K .....	413.5	315.2	241.5	174.5	157.5	105.3	93.8	60.6
Na .....	368.9	130.7	556.0	267.5	188.4	59.0	286.8	133.5
Ca .....	26.7	13.6	66.6	36.8	9.2	4.3	24.4	12.2
					517.4	213.3	727.4	336.4
	p. 100 g du poids de tissu frais							
	muscle jaune		muscle blanc					
	M	M/2	M	M/2				
Résidu sec .....	26.3	18.8	24.2	19.4				
Eau .....	73.7	81.2	75.8	80.6				
Espace « inuliné » .....	7.1	4.8	11.8	7.7				
	muscle jaune		muscle blanc					
	M	M/2	M	M/2				
Espace « inuliné » (pour 100 g d'eau totale)	9.6	5.9	15.6	9.6				

en eau de mer (M) et adaptées à l'eau de mer diluée (M/2), ainsi que la composition inorganique du sang (Cl, Na, K et Ca). Il présente d'autre part les concentrations en éléments inorganiques des muscles adducteurs, portion lente (blanche) et portion

premières lignes; la valeur g des huîtres conservées

rapide (jauné), des huîtres en eau de mer ou en eau saumâtre. Enfin, il résume, pour les deux lots d'huîtres, les résultats obtenus pour le calcul de l'espace extracellulaire de ces mêmes muscles par la méthode à l'inuline.

Dans le tableau II, on trouvera les résultats de l'analyse des constituants azotés des muscles blancs et jaunes chez les

TABLEAU II. — *Constituants azotés dialysables des fibres musculaires de Gryphaea angulata maintenue dans l'eau de mer (M) et dans l'eau de mer diluée deux fois (M/2).*

	mg p. 100 g de tissu frais				mOsm p. kilo d'eau de fibre			
	muscle jaune		muscle blanc		muscle jaune		muscle blanc	
	M	M/2	M	M/2	M	M/2	M	M/2
1. Acides aminés								
Alanine	218	116	143	57	36.7	17.0	25.1	8.7
Arginine	113	63	19.8	14.2	9.7	4.8	1.8	1.1
Ac. aspartique total	207	200	154	142	23.3	19.8	18.1	14.7
Ac. glutamique tot.	118	110	72	63	11.9	9.8	7.6	5.9
Glycocolle	216	126	82.2	37.3	43.1	22.0	17.1	6.8
Histidine	5.4				0.5			
Isoleucine	2.5	tr	tr	tr	0.3	tr	tr	tr
Leucine	4.6	tr	tr	tr	0.5	tr	tr	tr
Lysine	24	17	26	22	2.5	1.5	2.7	2.0
Phénylalanine	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Proline	64	30	31	18	8.3	3.4	4.2	2.1
Sérine	13.3	13.6	14.8	11.6	1.9	1.7	2.2	1.5
Thréonine	21.8	15.1	14.2	13.6	2.7	1.7	1.9	1.6
Tyrosine	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Valine	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
					141.4	81.7	80.7	44.4
2. Taurine	1040	679	650	462	125.0	71.0	81.2	50.8
3. Bétaïne	1360	879.3	873.9	587.6	174.4	98.4	116.7	68.9
4. Oxyde de triméthylamine	0	0	0	0	0	0	0	0
5. N aminé dialysable (ninhydrine)	311	206	180	116	333.0	192.3	200.2	113.9
6. N dialysable total	561.3	381.8	348.4	236.8	601.8	357.1	387.4	232.0

huîtres témoins et les huîtres adaptées à l'eau saumâtre. Dans le tableau III, nous avons calculé les modifications de concentration observées au cours de l'adaptation osmotique, tant pour les constituants azotés que pour les éléments inorganiques, et

TABLEAU III. — *Modifications des constituants osmotiquement actifs de l'eau de mer à l'adaptation osmotique de Gryphaea angulata de l'eau de mer à l'eau saumâtre en raison de l'augmentation*

1. Acides aminés dialysables
Alanine
Arginine
Ac. aspartique total
Ac. glutamique total
Glycocolle
Histidine
Isoleucine
Leucine
Lysine
Phénylalanine
Proline
Sérine
Thréonine
Tyrosine
Valine
2. Taurine
3. Bétaïne
4. N aminé dialysable
5. N dialysable total
6. Cl
7. K
8. Na
9. Ca
Somme 5, 6, 7, 8, 9

nous avons calculé la pa-  
variations d'hydratation  
valeurs (dernières colonn-  
tration qui résulte d'un  
intracellulaire.

Enfin, le tableau IV  
observées pour l'ensembl-  
substances azotées dialys-  
la valeur de l'abaissem-  
deux catégories de subs

mer ou en eau saumâtre. d'huitres, les résultats intracellulaire de ces mêmes

es résultats de l'analyse blancs et jaunes chez les

s fibres musculaires de *Gryphaea* eau de mer diluée deux fois (M/2).

		mOsm p. kilo d'eau de fibre			
		muscle jaune		muscle blanc	
		M	M/2	M	M/2
2					
2		36.7	17.0	25.1	8.7
		9.7	4.8	1.8	1.1
		23.3	19.8	18.1	14.7
		11.9	9.8	7.6	5.9
3		43.1	22.0	17.1	6.8
		0.5			
		0.3	tr	tr	tr
		0.5	tr	tr	tr
		2.5	1.5	2.7	2.0
		tr	tr	tr	tr
		8.3	3.4	4.2	2.1
6		1.9	1.7	2.2	1.5
6		2.7	1.7	1.9	1.6
		tr	tr	tr	tr
		tr	tr	tr	tr
		141.4	81.7	80.7	44.4
		125.0	71.0	81.2	50.8
6		174.4	98.4	116.7	68.9
		0	0	0	0
		333.0	192.3	200.2	113.9
8		601.8	357.1	387.4	232.0

à l'eau saumâtre. Dans modifications de concentration osmotique, tant pour éléments inorganiques, et

TABLEAU III. — Modifications de concentrations (mOsm p. kilo d'eau de fibre) des constituants osmotiquement actifs des fibres musculaires lors du passage de *Gryphaea angulata* de l'eau de mer à l'eau de mer diluée deux fois et modifications prévisibles en raison de l'augmentation d'hydratation observée.

	Modifications observées		Modifications prévisibles par suite de l'hydratation		Différence	
	Muscle jaune	Muscle blanc	Muscle jaune	Muscle blanc	Muscle jaune	Muscle blanc
<b>1. Acides aminés dialysables</b>						
Alanine	19.7	16.4	4.7	3.1	15.0	13.3
Arginine	4.9	0.7	1.2	0.2	3.7	0.5
Ac. aspartique total	3.5	3.4	3.0	2.2	0.5	1.2
Ac. glutamique total	2.1	1.7	1.5	0.9	0.6	0.8
Glycocolle	21.1	10.3	5.5	2.1	15.6	8.2
Histidine	—	—	0.1	—	—	—
Isoleucine	—	—	0	—	—	—
Leucine	—	—	0.1	—	—	—
Lysine	1.0	0.7	0.3	0.3	0.7	0.4
Phénylalanine	tr	—	—	—	—	—
Proline	4.9	2.1	1.1	0.5	3.8	1.6
Sérine	0.2	0.7	0.2	0.3	0	0.4
Thréonine	1.0	0.3	0.3	0.2	0.7	0.1
Tyrosine	tr	tr	tr	tr	tr	tr
Valine	tr	tr	tr	tr	tr	tr
2. Taurine	54.0	30.4	16.0	9.9	38.0	20.5
3. Bétaïne	76.0	47.8	22.4	14.2	53.6	33.6
4. N aminé dialysable	140.7	86.3	42.7	24.4	98.0	61.9
5. N dialysable total	244.7	155.4	77.2	47.3	167.5	108.1
6. Cl	117.6	192.3	20.8	39.4	96.8	152.9
7. K	52.2	33.2	20.2	11.5	32.0	21.3
8. Na	129.4	153.3	24.2	35.0	105.2	118.3
9. Ca	4.9	12.2	1.2	3.0	3.7	9.2
Somme 5, 6, 7, 8, 9	548.8	546.4	143.6	136.2	405.2	410.2

nous avons calculé la part de ces modifications imputable aux variations d'hydratation observées. La différence entre ces valeurs (dernières colonnes) représente la variation de concentration qui résulte d'un mécanisme d'adaptation isosmotique intracellulaire.

Enfin, le tableau IV résume les variations de concentration observées pour l'ensemble des constituants inorganiques et des substances azotées dialysables, et donne, en degrés centigrades, la valeur de l'abaissement cryoscopique correspondant à ces deux catégories de substances.

TABLEAU IV. — Constituants osmotiquement actifs (mOsm p. kilo d'eau de fibre) des fibres musculaires de *Gryphaea angulata* maintenue dans l'eau de mer (M) et dans l'eau de mer diluée (M/2).

	Muscle jaune		Muscle blanc		Différence	
	M	M/2	M	M/2	Muscle jaune	Muscle blanc
	Constituants inorganiques	517.4	213.3	727.4	336.4	304.1
N dialysable total	601.8	357.1	387.4	232.0	244.7	155.4
△ Calc	1119.2	570.4	1114.8	568.4	548.8	546.4
△ du milieu extérieur	—2°09C	—1°07C	—2°08C	—1°06C	—1°18C	—1°18C
	—2°20C	—1°02C	—2°20C	—1°02C	(631 mOsm)	(631 mOsm)
N dialysable total	602	357	387	232	245	155
1. Oxyde de triméthylamine	0	0	0	0	0	0
2. Bétaine	174	98	117	69	76	48
3. Taurine	125	71	81	51	54	30
4. Acides aminés dialysables dosés	141	82	81	44	59	37
5. Glycocolle	43	22	17	7	21	10
6. N aminé (ninhydrine)	333	192	200	114	141	86
7. Total 2, 3, 4	440	251	279	164	189	115
8. Total 2, 6	507	290	317	183	217	134
9. N total dialysable - N aminé (ninhydrine)	269	165	187	118	104	69
10. N total dialysable - N identifié (2 + 6)	95	67	70	49	28	21

Les résultats présentés ne peuvent être directement comparés à ceux d'une autre espèce de *Larrea*. GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU et al. (tableaux I à IV).

L'espace extracellulaire (= muscle blanc) et à l'intérieur des muscles adducteurs est deux fois moindre que celui du « inuline » est plus grande dans le muscle jaune et le volume de *Gryphaea* diminue au cours de l'adaptation.

Chez *Gryphaea*, comme chez *Larrea*, les constituants azotés sont plus riches dans le muscle blanc que dans le muscle jaune. Celui-ci est enrichi par des proportions normales de NaCl. Par contre, il est plus riche en eau des constituants inorganiques sous la forme d'azote et de NaCl des deux types de muscles. L'ensemble des constituants inorganiques est plus riche dans le muscle blanc.

Lors de l'adaptation à l'eau (—1°02 C), l'équilibre osmotique du sang et de l'eau intracellulaire est en déséquilibre est dû en partie à l'eau intracellulaire, mais surtout à la moindre teneur en eau intracellulaire, maintenue dans ces conditions. La régulation de l'eau pour la plus grande partie est assurée par la régulation de l'eau intracellulaire.

Chez *Gryphaea*, les principales anions intracellulaires que nous avons trouvés sont de K et de Cl, la teneur en glycocolle. Ce sont là les anions que nous avons aussi identifiés dans les chlorures qui, dans l'eau de mer.

La régulation isosmotique est assurée par *Gryphaea*, au cours de l'adaptation.

Discussion

Les résultats présentés dans les tableaux I à IV peuvent être directement comparés à ceux publiés antérieurement pour une autre espèce de Lamellibranche : *Ostrea edulis* (BRICTEUX-GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1964 : tableaux I à IV).

L'espace extracellulaire des portions à contraction lente (= muscle blanc) et à contraction rapide (= muscle jaune) des muscles adducteurs est, chez *Gryphaea*, approximativement deux fois moindre que chez *Ostrea*. Comme chez *Ostrea*, l'espace « inuline » est plus grand dans le muscle blanc que dans le muscle jaune et le volume de l'espace extracellulaire des muscles de *Gryphaea* diminue au cours de l'adaptation à des milieux dilués.

Chez *Gryphaea*, comme chez *Ostrea*, les constituants inorganiques prédominent dans le muscle blanc, tandis que ce sont les constituants azotés dialysables qui l'emportent dans le muscle jaune. Celui-ci se distingue en outre du muscle blanc par des proportions nettement plus faibles en Na et en Cl. Par contre, il est plus riche en bêtaïne et en taurine. L'ensemble des constituants inorganiques et des constituants azotés dosés sous la forme d'azote total dialysable constitue, dans le cas des deux types de muscles considérés, 95 p. 100 environ de l'ensemble des constituants osmotiquement actifs.

Lors de l'adaptation à de l'eau de mer diluée deux fois ( $\Delta = -1^{\circ}02\text{ C}$ ), l'équilibre est pratiquement établi entre la pression osmotique du sang et la pression osmotique intracellulaire. Cet équilibre est dû en partie à une augmentation de la teneur en eau intracellulaire, mais cette variation d'hydratation est moindre chez *Gryphaea* que chez *Ostrea*, adaptée dans les mêmes conditions. La régulation isosmotique intracellulaire est due, pour la plus grande part, à un processus actif.

Chez *Gryphaea*, les principaux effecteurs de l'osmorégulation intracellulaire que nous avons pu identifier sont les ions de Na, de K et de Cl, la taurine, la glyco-colle-bêtaïne, l'alanine et le glyco-colle. Ce sont là des effecteurs de l'osmorégulation que nous avons aussi identifiés dans le cas d'*Ostrea edulis*, à part les chlorures qui, dans cette espèce, ne paraissent pas intervenir.

La régulation isosmotique intracellulaire de *Gryphaea angulata*, au cours de l'adaptation à de l'eau de mer diluée deux

1. Bêtaïne	174	96	117	76	48	30	37	10	86	115	134	69	21
2. Taurine	125	71	81	54	30	30	59	21	141	189	217	104	28
3. Acides aminés dialysables dosés	141	82	81	59	37	37	44	7	200	279	317	187	49
4. Glyco-colle	43	22	17	21	10	10	7	7	114	164	217	104	28
5. N aminé (ninhydrine)	333	192	200	141	86	86	114	114	200	279	317	187	49
6. Total 2, 3, 4	440	251	279	189	115	115	164	164	279	317	317	187	49
7. Total 2, 6	507	290	317	217	134	134	183	183	317	317	317	187	49
8. N total dialysable - N aminé (ninhydrine)	269	165	187	104	69	69	118	118	187	187	187	104	28
9. N total dialysable - N identifié (2 + 6)	95	67	70	28	21	21	49	49	70	70	70	28	21

fois, se distingue donc de celle d'*Ostrea edulis* par une efficacité plus grande des mécanismes intervenant pour prévenir un changement d'hydratation cellulaire, et par l'intervention des anions de chlorure en qualité d'osmorégulateurs.

### Résumé

Au cours de l'adaptation de *Gryphaea angulata* à de l'eau de mer diluée deux fois, les muscles adducteurs se mettent en équilibre avec le milieu intérieur par une diminution de pression osmotique, réalisée principalement par la modification de concentration des ions Na, K et Cl, ainsi que de certains acides aminés libres, de la taurine, de la bétaïne et d'autres substances azotées dialysables non identifiées. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus précédemment pour *Ostrea edulis*.

### BIBLIOGRAPHIE

- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964 a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 116.  
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964 b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 267.  
 DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 30.  
 JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1962). — *Cah. de Biol. Mar.*, **3**, 107.  
 JEUNIAUX, Ch., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *J. Biochem. (Jap.)*, **49**, 527.  
 KÖRRINGA, P. (1952). — *Quarterly Rev. Biol.*, **27**, 266.  
 POTTS, W. T. W. (1952). — *J. exp. Biol.*, **35**, 749.  
 ROE, J. H., EPSTEIN, J. H. et GOLDSTEIN, N. P. (1949). — *J. biol. Chem.*, **178**, 839.

## EXCERPT

Les EXCERPTA M  
 extensif d'extraits des  
 immense de la médecine  
 20 sections qui font p  
 formant une document

### PHYSIOLOGY, B

Environ 100

### ABSTRA

Publicat

Nous désirons vous ra  
 dispose pour la traduction  
 Nous vous prions de nou  
 recevrez un relevé du prix

### EXCE

119-123, Herengracht  
 AMSTERDAM (Hollande)