

Reçu le 1^{er} février 1961.

RÔLE DE LA VARIATION DE LA COMPOSANTE
AMINO-ACIDE INTRACELLULAIRE
DANS L'EURYHALINITÉ D'*ARENICOLA MARINA* L.

PAR

GH. DUCHÂTEAU-BOSSON, CH. JEUNIAUX et M. FLORKIN
(Université de Liège, Institut Léon Fredericq, Biochimie
et Station biologique de Roscoff, Finistère)

Certains Invertébrés marins, dits pour cette raison « euryhalins », sont capables de pénétrer et de vivre dans l'eau saumâtre des estuaires et même éventuellement dans l'eau douce des rivières. Ils présentent donc la propriété de survivre en dépit d'une marge plus ou moins étendue de fluctuations de la concentration du milieu extérieur. L'interprétation classique de l'euryhalinité observée chez certains Invertébrés marins a été cherchée dans l'existence de mécanismes d'ionorégulation permettant à l'animal de maintenir la concentration osmotique de son milieu intérieur à un niveau supérieur à celle du milieu extérieur (osmorégulation). Cependant l'osmorégulation n'empêche pas une chute plus ou moins importante de la concentration osmotique du milieu intérieur et il existe, d'autre part, des espèces pourvues d'un degré non négligeable d'euryhalinité comme par exemple la moule *Mytilus edulis* ou l'arénicole *Arenicola marina* chez lesquelles le milieu intérieur s'équilibre avec le milieu extérieur (SCHLIEPER, 1929). DUCHÂTEAU et FLORKIN (1955, 1956) ont apporté une explication de l'adaptation des cellules à une valeur de la concentration ionique du sang abaissée en dépit de l'osmorégulation chez les espèces telles que *Carcinus maenas* et *Eriocheir sinensis* en montrant que la concentration intracellulaire des acides aminés non protéiques est l'objet d'une régulation dépendant de la concentration du milieu extérieur. Les effets osmotiques de cette régulation s'opposent aux mouvements d'eau entre cellules et milieu intérieur qui résulteraient des variations de concentration de ce milieu (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1956). Dans le cas de *Carcinus maenas*, la fonction régulatrice de la composante amino-acide intracellulaire a été

quantitativement qui a démontré que l'aminés est plus étendue d'hydratation. La précisée, dans le cas (1955) et dans le cas FLORKIN et JEUNIAUX

Une contribution d'euryhalinité a été que, dans le cas de le passage dans l'eau concentration de (muscles adducteurs) n'explique que par

Arenicola marina intérieur (SCHLIEPER) et cependant sa densité saumâtres. SCHLIEPER de Δ entre milieu une arénicole viva fois poecilosmotique désirable l'étude de la composante arénicole rendant compte de l'importance de cette inter

Les animaux, recueillis en France) (1), ont été pendant de 24 heures dans l'eau de mer et d'eau douce. Les animaux témoins ont été placés dans l'eau de mer diluée pendant cette période.

Cinq individus ont été placés dans l'eau de mer diluée pendant cette période.

(1) Ces expériences ont été effectuées par M. FLORKIN.

Reçu le 1^{er} février 1961.

LA COMPOSANTE
CELLULAIRE
ARENICOLA MARINA L.

UNIAUX et M. FLORKIN
n Fredericq, Biochimie
scoff, Finistère)

pour cette raison « eury-
et de vivre dans l'eau sau-
uellement dans l'eau douce
ropriété de survivre en dépit
de fluctuations de la concen-
rétation classique de l'eury-
tétrés marins a été cherchée
onrégulation permettant à
on osmotique de son milieu
celle du milieu extérieur
orégulation n'empêche pas
e de la concentration osmo-
e, d'autre part, des espèces
e d'euryhalinité comme par
arénicole *Arenicola marina*
s'équilibre avec le milieu
HÂTEAU et FLORKIN (1955,
de l'adaptation des cellules
onique du sang abaissée en
espèces telles que *Carcinus*
ntrant que la concentration
non protéiques est l'objet
ncentration du milieu exté-
e régulation s'opposent aux
milieu intérieur qui résulte-
on de ce milieu (DUCHÂTEAU
Carcinus maenas, la fonction
o-acide intracellulaire a été

quantitativement établie dans un beau travail de SHAW (1958) qui a démontré que la variation de concentration des acides aminés est plus étendue que ne le ferait prévoir la faible variation d'hydratation. La nature des acides aminés mis en jeu a été précisée, dans le cas d'*Eriocheir*, par DUCHÂTEAU et FLORKIN (1955) et dans le cas de *Carcinus maenas*, par DUCHÂTEAU, FLORKIN et JEUNIAUX (1959).

Une contribution importante à l'interprétation des caractères d'euryhalinité a été apportée par POTTS (1958), qui a montré que, dans le cas de *Mytilus edulis*, qui est poecilosmotique, le passage dans l'eau de mer diluée entraîne une diminution de concentration de la composante amino-acide intracellulaire (muscles adducteurs). La faible variation d'hydratation des tissus n'explique que partiellement cette diminution.

Arenicola marina ne présente pas d'osmorégulation du milieu intérieur (SCHLIEPER, 1929; BEADLE, 1937; ZENKEWITCH, 1938) et cependant sa distribution s'étend jusque dans les milieux saumâtres. SCHLIEPER (1929) a par exemple observé une égalité de Δ entre milieu extérieur ($\Delta : 0.7$) et milieu intérieur chez une arénicole vivant dans l'eau saumâtre. Le caractère à la fois poecilosmotique et euryhalin d'*Arenicola marina* rend désirable l'étude d'une intervention éventuelle des variations de la composante amino-acide intracellulaire dans les mécanismes rendant compte de l'euryhalinité, et l'appréciation de l'importance de cette intervention.

Méthodes

Les animaux, recueillis sur la grève de Roscoff (Finistère, France) (1), ont été adaptés progressivement, au cours d'une période de 24 heures, à un mélange en parties égales d'eau de mer et d'eau douce. Ils ont séjourné ensuite pendant 3 jours dans de l'eau de mer diluée 2 fois, renouvelée et aérée constamment. Les animaux témoins ont été conservés dans l'eau de mer courante pendant cette même période.

Cinq individus ayant supporté sans lésions le séjour dans l'eau de mer diluée ont été soigneusement lavés et essorés.

(1) Ces expériences ont été réalisées pendant le mois de juillet 1960.

Le tube musculo-cutané ouvert, le sang a été prélevé par capillarité, en évitant toute souillure par le contenu du tube digestif. Le tube musculo-cutané a été ensuite soigneusement préparé par arrachement du tube digestif et grattage au scalpel à l'intérieur comme à l'extérieur (branchies). La région caudale a été éliminée. La préparation musculo-cutanée a été lavée à l'eau de mer diluée deux fois, essorée, pesée, et plongée aussitôt dans une quantité connue d'eau bouillante. Cinq animaux-témoins ont fourni des préparations musculo-cutanées analogues, mais dans ce cas les tissus ont été lavés au moyen d'eau de mer. Pour chaque individu, la durée de ces manipulations n'a jamais excédé 7 minutes.

La pression osmotique des milieux extérieurs et des échantillons de sang a été évaluée par mesure de l'abaissement cryoscopique.

Chaque série de préparations musculo-cutanées a été homogénéisée au Waring-blender et dialysée pendant 24 h. contre un volume d'eau distillée 10 fois supérieur au volume d'homogénat, à 0° C., avec agitation mécanique permanente. Après évaporation, le dialysat a été hydrolysé par chauffage à reflux pendant 24 h. en présence d'acide chlorhydrique 6 N. Les acides aminés ont été dosés par la méthode microbiologique (cf. DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1954). Les résultats sont réunis dans le Tableau I.

Discussion

La concentration de la composante amino-acide libre des muscles d'*Arenicola marina* vivant dans l'eau de mer est très élevée. Comme dans le cas de *Sipunculus nudus* (DUCHÂTEAU, SARLET, CAMIEN et FLORKIN, 1951) et comme dans celui du homard (CAMIEN, SARLET, DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1951) le glycocolle est de loin l'acide aminé libre qui prédomine, l'alanine intervenant en second rang. La proline, l'un des principaux acides aminés libres des muscles de Crustacés marins, est ici absente, et l'arginine est présente à très faible concentration, ce qui cadre avec la nature du phosphagène d'*Arenicola*, qui est, non la phosphoarginine mais la phosphoguanidotaurine (THOAI, ROCHE, ROBIN et THIEM, 1953).

Alanine
Arginine
Ac. aspartique
Ac. glutamique
Glycocolle
Histidine
Isoleucine
Leucine
Lysine
Méthionine
Phénylalanine
Proline
Thréonine
Tyrosine
Valine

(¹) La glutamine et l'aspartate pour l'acide aspartique et l'acide glutamique.

Comme le montre le Tableau I, la concentration est faible et la plus grande des acides aminés libres. La variation de la concentration (Tableau I) de la dialysat les plus importants est le glycocolle et l'alanine.

TABLEAU I. — *Arenicola marina*
Acides aminés des dialysats hydrolysés ⁽¹⁾ des muscles

	mg. p. 100 g. de tissus frais		mmoles p. 100 g. de tissus frais	
	Eau de mer	Eau de mer diluée 2 fois	Eau de mer	Eau de mer diluée 2 fois
Alanine	663.6	196.1	7.45	2.20
Arginine	3.2	2.9	.02	.07
Ac. aspartique	183.7	194.0	1.38	1.46
Ac. glutamique	153.6	94.4	1.04	.64
Glycocolle	1685.7	747.5	22.46	9.96
Histidine	17.9	5.7	.12	.37
Isoleucine	6.4	2.7	.05	.02
Leucine	9.6	3.7	.07	.03
Lysine	25.6	22.1	.18	.15
Méthionine	4.7	1.6	.03	.01
Phénylalanine	6.4	4.3	.04	.03
Proline	± 0.0	± 0.0	—	—
Thréonine	23.0	10.2	.19	.09
Tyrosine	4.1	1.8	.03	.01
Valine	7.5	2.5	.06	.02
	2795.0	1289.5	33.12	15.06
			Différence = 0.18 moles/l (soit environ 0.4° C.)	

(¹) La glutamine et l'asparagine sont donc comptées dans les valeurs données pour l'acide aspartique et l'acide glutamique totaux.

Comme le montre le Tableau II, l'hydratation des muscles à la suite du passage dans l'eau de mer diluée deux fois est très faible et la plus grande partie de la variation de concentration des acides aminés libres ne peut être expliquée par cette dilution. La variation de la composante amino-acide résulte surtout (Tableau I) de la diminution de concentration des deux acides aminés les plus importants quantitativement, c'est-à-dire le glycocolle et l'alanine.

TABLEAU II. — *Arenicola marina*

Eau de mer	Nombre d'individus	Poids de tissu frais, g.	Eau p. 100	mg. acides aminés p. 100 g. de tissu frais	mg. acides aminés p. 100 g. d'eau
$\Delta_e = -2.08$ $\Delta_i = -2.14$	5	10.3147	78.1	2795	3579
Eau de mer diluée 2 fois					
$\Delta_e = -1.12$ $\Delta_i = -1.05$	5	10.7712	83.5	1289.5	1544

$$\Delta \text{ acides aminés mg. p. 100 g. d'eau} = 3579 - 1544 = 2035$$

$$\Delta \text{ acides aminés mg. p. 100 g. d'eau résultant de la dilution} = 3579 - 3347 = 232$$

$$\Delta \text{ acides aminés p. 100 g. d'eau non expliqué par la dilution} = 2035 - 232 = 1803$$

(soit 89 p. 100)

On voit que lorsque le milieu extérieur (et par conséquent le milieu intérieur) est dilué deux fois, la concentration des acides aminés intracellulaires est, outre la faible variation résultant de l'hydratation, approximativement diminuée de moitié. Cette variation concourt à abaisser la concentration osmotique intracellulaire d'une valeur correspondant, en termes d'abaissement cryoscopique, à environ 0.4° C., alors que l'abaissement cryoscopique du milieu intérieur subit une variation d'environ 1° C.

Il est intéressant de constater que chez les animaux euryhalins jusqu'à présent étudiés sous ce rapport, on observe une intervention, dans les mécanismes responsables de cette euryhalinité, soit uniquement de la variation de concentration de la composante amino-acide intracellulaire (*Mytilus*, *Arenicola*) soit une intervention à la fois de la variation de concentration de la composante amino-acide intracellulaire et de l'osmorégulation

(*Eriocheir*, *Carcinus*) cellulaire est le plus milieu intérieur étendu nismes qui ont subi une concentration osmotique saumâtre, à égalité reste ouverte de savoir dont la diminution des acides aminés dont il a été dans la régulation.

Bien que poecilohalin, degré, euryhalin. Quant diluée deux fois, le milieu ce qui montre l'existence d'une adaptation osmotique à un niveau plus basse que celle osmotique vers le bas côté osmotique, à 1° C. en fait la concentration des quinze acides aminés concourt pour une adaptation (soit environ).

- BEADLE, L. C. (1937). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- CAMIEN, M. N., SARLET, J. (1958). — *Chem.*, **193**, 881.
- DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1958). — *Biochim. Acta*, **1**, 107.
- DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1958). — *Biochim. Acta*, **1**, 107.
- DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1958). — *Biochim. Acta*, **1**, 107.
- DUCHÂTEAU, GH., FLORKIN, M. (1958). — *Biochim. Acta*, **1**, 107.
- DUCHÂTEAU, GH., SARLET, J. (1958). — *Internat. Physiol.*, **40**, 107.
- POTTS, W. T. W. (1958). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- SCHLIEPER, C. (1929). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- SHAW, J. (1958). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- THOAI, N. V., ROCHE, J., SARLET, J. (1958). — *Acta*, **11**, 593.
- WELLS, G. P. et LEDINGHAM, J. G. G. (1938). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- ZENKEWITCH, L. (1938). — *J. exp. Biol.*, **10**, 107.
- DINGHAM, 1940).

Arenicola marina

Eau p. 100	mg. acides aminés p. 100 g. de tissu frais	mg. acides aminés p. 100 g. d'eau
78.1	2795	3579
83.5	1289.5	1544

d'eau = 3579 — 1544 = 2035
 d'eau résultant de la dilution
 = 3579 — 3347 = 232
 non expliqué par la dilution
 = 2035 — 232 = 1803
 (soit 89 p. 100)

rieur (et par conséquent le
 la concentration des acides
 faible variation résultant
 t diminuée de moitié.
 la concentration osmotique
 dant, en termes d'abaisse-
 C., alors que l'abaissement
 it une variation d'environ

chez les animaux euryhalins
 ort, on observe une inter-
 ables de cette euryhalinité,
 concentration de la compo-
tytilus, Arenicola) soit une
 on de concentration de la
 ire et de l'osmorégulation

(*Eriocheir, Carcinus*). Ceci fait supposer que le mécanisme intra-cellulaire est le plus ancien, le mécanisme ionorégulateur du milieu intérieur étendant les capacités euryhalines des organismes qui ont secondairement acquis ce mécanisme. Si la concentration osmotique des muscles d'*Arenicola* est, dans l'eau saumâtre, à égalité avec celle du milieu intérieur, la question reste ouverte de savoir quelles sont les autres petites molécules dont la diminution de concentration, à côté de celle des acides aminés dont il a été question dans le présent travail, intervient dans la régulation.

Résumé

Bien que poecilosmotique, *Arenicola marina* est, à un certain degré, euryhalin. Quand l'animal est mis dans l'eau de mer diluée deux fois, le degré d'hydratation des muscles varie peu, ce qui montre l'existence d'une régulation de la pression osmotique à un niveau plus bas (le déplacement de la pression osmotique vers le bas correspondant, en termes d'abaissement cryoscopique, à 1° C. environ), à laquelle l'abaissement de concentration des quinze acides aminés dosés dans le présent travail concourt pour une part importante (correspondant à 0.4° C. environ).

BIBLIOGRAPHIE

- BEADLE, L. C. (1937). — *J. exper. Biol.*, **14**, 56.
 CAMIEN, M. N., SARLET, H., DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1951). — *J. biol. Chem.*, **193**, 881.
 DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1954). — *Arch. internat. Physiol.*, **62**, 487.
 DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1955). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **63**, 249.
 DUCHÂTEAU, GH. et FLORKIN, M. (1956). — *J. de Physiol.*, **48**, 520.
 DUCHÂTEAU, GH., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, CH. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 489.
 DUCHÂTEAU, GH., SARLET, H., CAMIEN, M. N. et FLORKIN, M. (1951). — *Arch. internat. Physiol.*, **40**, 124.
 POTTS, W. T. W. (1958). — *J. exper. Biol.*, **35**, 749.
 SCHLIEPER, C. (1929). — *Z. vergl. Physiol.*, **9**, 478.
 SHAW, J. (1958). — *J. exper. Biol.*, **35**, 920.
 THOAI, N. V., ROCHE, J., ROBIN, Y. et THIEM, N. V. (1953). — *Biochim. et Biophys. Acta*, **11**, 593.
 WELLS, G. P. et LEDINGHAM, I. (1940). — *J. exper. Biol.*, **17**, 337.
 ZENKEWITCH, L. (1938). — *Zool. Zh.*, **17**, 845, 976 (cité d'après WELLS et LEDINGHAM, 1940).