

Reçu le 31 juillet 1964.

**SUR LE MÉCANISME DE LA RÉGULATION  
DE LA CONCENTRATION INTRACELLULAIRE EN  
ACIDES AMINÉS LIBRES, CHEZ *ERIOCHEIR SINENSIS*,  
AU COURS DE L'ADAPTATION OSMOTIQUE**

PAR

M. FLORKIN, Gh. DUCHÂTEAU-BOSSON,  
Ch. JEUNIAUX et E. SCHOFFENIELS

(Institut Léon Fredericq, Biochimie, Université de Liège)

(2 figures)

### Introduction

On sait que le crabe chinois (*Eriocheir sinensis* MILNE-EDWARDS) est capable de s'adapter à des milieux de concentration saline très variable. Tant que la variation de salinité ne dépasse pas certaines limites (par exemple, au cours du passage de l'eau de mer à de l'eau de mer diluée deux fois), le milieu intérieur ne subit pas de variation de pression osmotique (régulation anisosmotique). Mais lorsque la variation de salinité dépasse une certaine valeur (par exemple, lors du passage de l'eau de mer à l'eau douce), la pression osmotique du milieu intérieur diminue, bien qu'elle reste supérieure à celle du milieu extérieur. On constate cependant que le degré d'hydratation des tissus ne subit pas de variation sensible ; le milieu intracellulaire est en effet le siège d'une régulation isosmotique. La variation de la valeur de l'abaissement cryoscopique intracellulaire, lors du passage de l'eau de mer à l'eau douce, est de l'ordre de 1° C. La variation de concentration en ions inorganiques (essentiellement Na, K et Cl) participe à cet ajustement osmotique à concurrence de 50 à 55 %. Les autres effecteurs osmolaires intracellulaires, qui participent

à cette régulation sont triméthylamine (BRICTEAU, JEUNIAUX et FLORKIN,

L'intervention, à des degrés différents, dans l'osmorégulation évidente chez d'autres Crustacés (*Carcinus*, FLORKIN et JEUNIAUX, *Crangon crangon*, *ratus* (JEUNIAUX, BRICTEAU, 1961), chez les Mollusques *Murex brandaris*, GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON et *Ostrea edulis* (BRICTEAU, JEUNIAUX et FLORKIN, 1961), *Arenicola marina* (DUCHÂTEAU-BOSSON et FLORKIN, 1961), *Nereis diversicolor* (FLORKIN, 1962). Les Crustacés possèdent donc une régulation intracellulaire entraînée par l'entrée de ions inorganiques et de molécules azotées : aminoacides (principalement l'alanine et l'acide glutamique), ainsi que par l'entrée de thylamine et la taurine.

Nous nous sommes intéressés à la régulation isosmotique du crabe chinois. Il semble que ce crustacé possède un système aminoacide en particulier. Nous postulons l'existence d'un système d'adaptation intracellulaire spécifique à l'osmose. La dégradation de ce système dépendrait de l'activité des acides aminés libres dans le milieu extracellulaire. Nous avons donc étudié l'effet d'une augmentation de la concentration en ces acides sur la régulation matérielle rendrait compte de ces modifications. Si notre hypothèse se vérifierait si l'activité des acides aminés actifs dans le milieu extracellulaire dépend de leur concentration dans le milieu intérieur, alors leur concentration dans le milieu intérieur devrait être élevée.

Déjà lors du passage de l'eau de mer à l'eau douce, il existe une augmentation de la concentration en acides aminés actifs dans le milieu extracellulaire.

Reçu le 31 juillet 1964.

RÉGULATION  
ACELLULAIRE EN  
EARIOCHEIR SINENSIS,  
EN OSMOTIQUE

AU-BOSSON,  
FENIELS  
(Université de Liège)

*Eriocheir sinensis* MILNE-  
des milieux de concen-  
la variation de salinité  
exemple, au cours du  
mer diluée deux fois),  
ation de pression osmo-  
s lorsque la variation  
er (par exemple, lors du  
, la pression osmotique  
elle reste supérieure à  
cependant que le degré  
de variation sensible ;  
siège d'une régulation  
de l'abaissement cryo-  
de l'eau de mer à l'eau  
iation de concentration  
(Na, K et Cl) participe  
rence de 50 à 55 %.  
llulaires, qui participent

à cette régulation sont des acides aminés libres et l'oxyde de triméthylamine (BRICTEUX - GREGOIRE, DUCHÂTEAU - BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1962).

L'intervention, à des degrés divers, des acides aminés libres dans l'osmorégulation intracellulaire a été également mise en évidence chez d'autres Invertébrés euryhalins, notamment chez les Crustacés *Carcinus maenas* (SHAW, 1958; DUCHÂTEAU, FLORKIN et JEUNIAUX, 1959), *Leander squilla* et *Leander serratus* (JEUNIAUX, BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN, 1961); chez les Mollusques *Mytilus edulis* (POTTS, 1958; BRICTEUX-GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1964a) et *Ostrea edulis* (BRICTEUX-GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1964b), chez les Annélides Polychètes *Arenicola marina* (DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1961), *Nereis diversicolor* et *Perinereis cultrifera* (JEUNIAUX, DUCHÂTEAU-BOSSON et FLORKIN, 1961), ainsi que chez l'étoile de mer *Asterias rubens* (JEUNIAUX, BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN, 1962). Les Invertébrés euryhalins ci-dessus mentionnés possèdent donc la capacité d'ajuster la pression osmotique intracellulaire en modifiant non seulement la concentration des ions inorganiques, mais aussi celle de certaines petites molécules azotées : en l'occurrence, des acides aminés libres (principalement lalanine, le glycocolle, la proline et l'acide glutamique), ainsi que, dans certains cas, l'oxyde de triméthylamine et la taurine.

Nous nous sommes posé le problème du mécanisme de la régulation isosmotique intracellulaire par le jeu de la composante aminoacide en envisageant deux hypothèses. La première postule l'existence d'un matériel protéique ou polypeptidique intracellulaire spécifique : une augmentation de la vitesse de dégradation de ce matériel assurerait la fourniture de certains acides aminés libres en période de déficit osmotique, tandis qu'une augmentation de la vitesse de synthèse de ce même matériel rendrait compte de la diminution de concentration de ces mêmes acides aminés, dans le cas contraire. Cette hypothèse se vérifierait si la teneur globale intracellulaire en un des acides aminés actifs comme osmorégulateurs ne subissait pas de variation sensible au cours de l'adaptation osmotique.

Déjà lors du passage de *Carcinus maenas* de l'eau de mer à l'eau de mer à 40 %, SHAW (1958) n'a pas observé de modi-

fication de l'accroissement de l'azote  $\alpha$ -aminé résultant de l'hydrolyse de la fibre musculaire.

Une seconde hypothèse consiste à admettre que les variations de concentration des acides aminés résultent de l'activation ou de l'inhibition des processus de synthèse et de dégradation des acides aminés intracellulaires. Dans ce cas, la teneur globale d'un tissu en un acide aminé déterminé subirait une variation égale à la variation de concentration de cet acide aminé sous sa forme libre. D'autre part, l'adaptation à des milieux hypotoniques devrait s'accompagner d'une excrétion azotée accrue, tandis que l'adaptation à des milieux hypertoniques devrait s'accompagner d'une diminution de l'excrétion azotée. De telles modifications de l'excrétion azotée ont été observées par NEEDHAM (1957) pour *Carcinides maenas*.

Le présent travail fait état des résultats expérimentaux obtenus en étudiant, chez le crabe chinois *Eriocheir sinensis*, les variations des teneurs en alanine et en proline libres et totales des muscles des pattes, et les variations de l'excrétion azotée, au cours du passage de l'eau de mer à l'eau douce, ou vice versa<sup>(1)</sup>.

## Matériel et méthodes

#### 1. — Matériel biologique et variation individuelle.

Les crabes (*Eriocheir sinensis*) nous ont été envoyés par le Dr KORRINGA, directeur du Rijksinstituut voor Visserij-Onderzoek, à Ijmuiden (Pays-Bas). Toutes les expériences relatées dans ce travail ont été réalisées pendant les mois d'octobre et de novembre, sur des individus adultes, en intermède (stade C<sub>4</sub>: DRACH, 1939). Dans le but d'éviter les erreurs dues aux variations individuelles, nous avons procédé de la manière suivante pour mesurer les teneurs en acides aminés libres et totaux avant et après l'adaptation osmotique. Par autotomie, on prélève deux pattes à chaque crabe, et ce dernier est transféré aussitôt dans un aquarium isolé. Ces deux pattes sont utilisées pour le prélèvement des muscles. Après adaptation au milieu

<sup>(1)</sup> Une partie de ces résultats ont fait l'objet d'une note préliminaire : cf. JEUNIAUX et FLORKIN, 1961.

de concentration saline  
un second isolement de

L'eau de mer utilisée soit dans de l'eau de mer crysocopique : — 2° 4), parée au laboratoire d'agronomie (1940) et ajustée au pH désiré de l'adaptation à donnés avec les résultats obtenus. Les lieux ont été oxygénés puis renouvelés quotidiennement en cours d'expérience.

## 2. — Prélèvement des é

### 3. — Mesure de l'alan et totales des muscles.

Le dosage de l'alanine totale des muscles

miné résultant de l'hy-  
entre que les variations  
ultent de l'activation  
nèse et de dégradation  
ce cas, la teneur glo-  
liné subirait une varia-  
on de cet acide aminé  
ptation à des milieux  
une excréition azotée  
milieux hypertoniques  
de l'excrétion azotée.  
otée ont été observées  
*haenas.*

sultats expérimentaux  
mois *Eriocheir sinensis*,  
proline libres et totales  
de l'excrétion azotée,  
l'eau douce, ou vice

es

individuelle.

nt été envoyés par le  
ut voor Visserij-Onder-  
es expériences relatées  
nt les mois d'octobre  
, en intermèue (stade C<sub>4</sub> :  
erreurs dues aux varia-  
de la manière suivante  
aminés libres et totaux  
e. Par autotomie, on  
ce dernier est transféré  
ux pattes sont utilisées  
adaptation au milieu

d'une note préliminaire : cf.

de concentration saline désirée, le même crabe est utilisé pour un second isolement de muscles à partir de deux autres pattes.

L'eau de mer utilisée au cours de ces expériences a consisté soit dans de l'eau de mer du Golfe de Gascogne (abaissement cryoscopique : — 2° 4), soit dans une solution artificielle préparée au laboratoire d'après la formule de LYMAN et FLEMING (1940) et ajustée au pH 7.8. Les détails concernant les modalités de l'adaptation à des milieux dilués ou concentrés sont donnés avec les résultats expérimentaux. En principe, les milieux ont été oxygénés par barbotage permanent d'air comprimé, et renouvelés quotidiennement. Les crabes n'ont pas été nourris en cours d'expérience.

## 2. — *Prélèvement des échantillons de muscles.*

On provoque l'autotomie de deux pattes thoraciques de chaque crabe étudié ; on choisit de préférence la quatrième paire. On prélève les muscles des méropodites. La carapace de chaque méropodite est cisaiillée ; on saisit, au moyen de pinces, la base d'un tendon, et chaque muscle est arraché par traction. On l'essore rapidement sur papier filtre puis on l'agit pendant 30 secondes dans une solution d'eau de mer approximativement isotonique avec le sang du crabe (eau de mer diluée deux fois pour les crabes venant de l'eau douce ; eau de mer non diluée pour les crabes adaptés à l'eau de mer). On essore de nouveau le muscle sur papier filtre, en veillant éventuellement à le débarrasser des lambeaux d'épiderme pouvant y adhérer. On sépare les fibres musculaires de leur tendon au moyen d'un scalpel. La masse musculaire portée sur un verre de montre taré est pesée sans délai, puis introduite dans un large tube contenant de l'eau bouillante. L'ébullition est maintenue pendant 10 minutes. Une autre partie des muscles prélevés est utilisée pour la détermination du poids sec et le dosage des acides aminés totaux. Le temps consacré à l'ensemble des manipulations entre la dissection du méropodite et la plongée des muscles dans l'eau bouillante ne dépasse pas 5 minutes.

## 3. — *Mesure de lalanine, de la proline et de la leucine libres et totales des muscles.*

Le dosage de lalanine, de la proline et de la leucine libres ou totales des muscles a été effectué par la méthode micro-

biologique (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1954). Pour déterminer les acides aminés libres, on a utilisé les dialysats hydrolysés obtenus à partir des purées de muscles comme décrit dans le mémoire cité ci-dessus.

Par contre, le dosage des acides aminés totaux a été réalisé sur une petite portion de muscles séchés puis hydrolysés par ébullition à reflux, pendant 24 heures, en présence d'HCl 6N.

#### 4. — Mesure de l'excration azotée.

Chaque solution, ayant contenu un crabe pendant 24 heures, est filtrée et son volume est mesuré. On préleve une partie aliquote (10 ou 20 ml) dont on dose, par micro-Kjeldahl, soit l'azote total après minéralisation, soit l'azote des composés volatils (essentiellement  $\text{NH}_3$ ) par distillation directe. La quantité d'azote excrétée par période de 24 heures est calculée en tenant compte du volume total de la dilution récoltée.

### VARIATION DE L'ALANINE ET DE LA PROLINE AU COURS D'UNE ADAPTATION OSMOTIQUE.

#### 1. — Dispositions expérimentales.

Le but de cette expérience est de rechercher si, au niveau d'un tissu qui se met en équilibre osmotique avec le milieu intérieur, les variations de concentration intracellulaire en un acide aminé libre s'accompagnent ou non d'une variation de la quantité totale de cet acide aminé. Nous avons mesuré les variations de lalanine libre et de lalanine totale des muscles des méropodites d'*Eriocheir sinensis*, ainsi que celles de la proline, au cours du passage de l'eau douce à l'eau de mer, et nous les avons comparées aux variations de la leucine. Lalanine et la proline sont en effet, chez cet animal, parmi les effecteurs osmolaires les plus importants du point de vue de la régulation osmotique intracellulaire, tandis que la leucine ne joue aucun rôle à ce point de vue, et peut donc être prise comme témoin.

L'adaptation à l'eau de mer a été réalisée endéans 6 jours. La mesure de la teneur en alanine, en proline et en leucine a porté, dans chaque cas, sur les muscles des pattes du même individu, avant et après l'adaptation. Les résultats sont présentés dans le tableau I.

#### 2. — Résultats.

Le tableau I montre que, pour lalanine totale, l'augmentation marquée, dans les deux cas, est due à l'augmentation de lalanine totale. La diminution de lalanine libre et l'augmentation de lalanine protéique des muscles.

De même, alors que la teneur en leucine dans les muscles a augmenté fortement, la teneur en proline également augmenté dans les muscles. Cela signifie que la proline présente dans les muscles a diminué.

Au contraire, dans le cas de lalanine, la teneur en alanine ne participe pas à l'osmose. La teneur en leucine totale dans les muscles a diminué de 6 jours à l'eau de mer, alors que la teneur en alanine n'a pas varié. Cette diminution peut être attribuable au jeûne de l'animal dans cette période.

Ces résultats semblent prouver que la synthèse nette dalanine et de proline dans les tissus sous l'influence de l'adaptation osmotique tissulaire est due à la diminution de la réserve dalanine et de proline à l'intérieur des cellules.

### EXCRÉTION AZOTÉE AU COURS D'UNE ADAPTATION OSMOTIQUE.

#### 1. — Dispositions expérimentales.

Etant donné que le tranchage des pattes, provoqué, chez l'*Eriocheir sinensis*, par l'adaptation de l'excration azotée, a été veillé à n'employer que des pattes intactes.

Au cours d'une première adaptation osmotique, depuis plus d'un mois dans l'eau douce, par palier, et mesuré quotidiennement, l'excration azotée a diminué à jeûn dans l'eau de mer, dans des milieux contenant de l'eau de mer, enfin pendant l'adaptation osmotique.

## 2. — Résultats.

Le tableau I montre que, au cours de l'adaptation à l'eau de mer, l'augmentation marquée de lalanine libre est accompagnée, dans les deux cas étudiés, d'une augmentation parallèle de lalanine totale. La différence entre les valeurs observées pour lalanine libre et lalanine totale montre que la teneur en alanine protéique des muscles a peu varié.

De même, alors que la concentration de la proline libre des muscles a augmenté fortement, la teneur en proline totale a également augmenté dans des proportions équivalentes, ce qui signifie que la proline protéique n'a pas varié de façon significative.

Au contraire, dans le cas de la leucine, dont la forme libre ne participe pas à l'osmorégulation intracellulaire, on constate que la teneur en leucine totale a diminué sensiblement au cours de la période de 6 jours pendant laquelle le crabe s'est adapté à l'eau de mer, alors que la concentration de la leucine libre n'a pas varié. Cette diminution de la leucine protéique est peut-être attribuable au jeûne supporté par les animaux pendant cette période.

Ces résultats semblent plaider en faveur d'une augmentation de la synthèse nette dalanine et de proline au cours de l'adaptation osmotique tissulaire, plutôt qu'en faveur d'une libération dalanine et de proline à partir d'un matériel protéique « de réserve » intracellulaire.

## EXCRÉTION AZOTÉE AU COURS DE L'ADAPTATION OSMOTIQUE.

### 1. — Dispositions expérimentales.

Etant donné que le traumatisme, notamment l'amputation des pattes, provoque, chez *Carcinides maenas*, une forte augmentation de l'excrétion azotée (NEEDHAM, 1957), nous avons veillé à n'employer que des individus intacts.

Au cours d'une première expérience, trois crabes vivant depuis plus d'un mois dans de l'eau de mer ont été adaptés à de l'eau douce, par paliers successifs. L'azote excrété a été mesuré quotidiennement, d'abord pendant 3 jours de conservation à jeûn dans l'eau de mer, ensuite pendant le passage dans des milieux contenant respectivement 66 %, 50 % et 33 % d'eau de mer, enfin pendant 3 jours de conservation dans de

l'eau douce. Le volume d'eau contenant chaque crabe était d'environ 750 ml pour 100 g de poids corporel.

Au cours d'une seconde expérience, trois crabes vivant depuis plus d'un mois dans de l'eau douce ont été adaptés à l'eau de mer. L'excrétion azotée a été mesurée dans le milieu de départ pendant 3 jours consécutifs, puis pendant le passage à des milieux hypertoniques, et enfin pendant 3 jours dans de l'eau de mer. Le volume d'eau distribué quotidiennement à chaque aquarium individuel était également de 750 ml pour 100 g de poids corporel.

Les aquariums étaient couverts, afin de limiter l'évaporation, et l'expérience a été conduite à 10° C. Les solutions n'ont pas été aérées par barbotage d'air comprimé, de manière à éviter la perte d'ammoniac.

Quotidiennement, l'eau de chaque aquarium a été recueillie, mesurée et filtrée. Les fèces rejetées par les animaux étant enveloppées d'une membrane péritrophique, elles sont facilement retenues par les filtres. Les solutions filtrées ont été utilisées sans délai pour le dosage de l'azote total, après minéralisation. Les résultats, exprimés en mg d'azote excrété par individu et par 24 h, sont présentés dans les figures 1 et 2.

Au cours d'une troisième expérience, les trois crabes qui avaient été transférés de l'eau de mer à l'eau douce, et gardés pendant 15 jours dans ce dernier milieu, ont été réadaptés à l'eau de mer. Au cours de cette seconde adaptation, on a mesuré simultanément la quantité d'azote total excréte (après minéralisation) et la quantité d'azote excréte sous forme de bases volatiles (distillation directe, sans minéralisation). Les résultats sont exposés dans le tableau II.

## 2. — Résultats.

L'examen des figures 1 et 2 montre que la quantité d'azote total excrétée pendant 24 h est de l'ordre de 2 à 4 mg par individu pesant entre 100 et 200 g. L'excrétion azotée est identique dans l'eau douce et dans l'eau de mer.

Lorsque les crabes accoutumés à l'eau de mer sont adaptés à des milieux de plus en plus dilués, la quantité d'azote total excréte augmente, pour atteindre, au moment du transfert en eau douce, des valeurs de l'ordre de 10 à 12 mg/24 h (fig. 1).

TABLEAU I. — *Variations de l'alanine, de la proline et de la leucine, libres et totales, des muscles des pâtes d'Eriocheir sinensis, au cours de l'adaptation à l'eau de mer.*

Concentration en mg pour 100 g de muscles secs,

*a* = valeurs obtenues en eau douce, au début de l'expérience,  
*b* = valeurs obtenues en fin d'expérience, soit après 6 jours d'adaptation à l'eau de mer.

Individus n°	Alanine protéique (par différence : 2-1)	
	Alanine libre (1)	Alanine totale (2)

ant chaque crabe était corporel.

Trois crabes vivant eau douce ont été adaptés à la concentration mesurée dans le milieu marin, puis pendant le passage de l'adaptation pendant 3 jours dans l'eau douce, et distribué quotidiennement dans un volume de 750 ml pour une période de 6 jours.

Pour limiter l'évaporation, les solutions n'ont pas été mises en bouteille, de manière à éviter la déshydratation.

Leur aquarium a été recueilli, mais les animaux étant vivants, elles sont facilement filtrées et ont été utilisées pour l'adaptation, après minéralisation. L'urine excrétée par individu n° 1 et 2.

Les trois crabes qui ont été adaptés à l'eau douce, et gardés dans l'eau douce, ont été réadaptés à l'eau de mer. Pour l'adaptation, on a mesuré la quantité d'azote urinaire excreté (après minéralisation). Les résultats sont les suivants :

La quantité d'azote urinaire est de 2 à 4 mg par individu. La quantité d'azote urinaire azotée est identique pour les deux crabes.

Les crabes adaptés à l'eau de mer sont adaptés à l'eau de mer. La quantité d'azote total dans l'urine au moment du transfert de l'eau douce à l'eau de mer est adaptée à l'eau de mer (fig. 1).

TABLEAU I. — Variations de l'alanine, de la proline et de la leucine, libres et totales, des muscles des pattes d'*Eriocheir sinensis*, au cours de l'adaptation à l'eau de mer.

Concentration en mg pour 100 g de muscles secs,

a = valeurs obtenues en eau douce, au début de l'expérience,

b = valeurs obtenues en fin d'expérience, soit après 6 jours d'adaptation à l'eau de mer.

Individus n°	Alanine libre (1)			Alanine totale (2)			Alanine protéique (2-1)		
	a	b	variation	a	b	variation	a	b	variation
1	1764	2899	+ 1135	5582	6777	+ 1195	3818	3878	+ 60
3	1794	3183	+ 1389	5633	6594	+ 961	3839	3410	- 429
Proline libre (1)			Proline totale (2)			Proline protéique (2-1)			
1	1966	2575	+ 609	4451	4614	+ 163	2485	2039	- 446
2	953	1755	+ 802	3783	4531	+ 748	2830	2775	- 54
3	718	1446	+ 728	3707	4569	+ 862	2989	3123	+ 134
Leucine libre (1)			Leucine totale (2)			Leucine protéique (2-1)			
1	317	198	- 121	6415	5799	- 616	6098	5601	- 497
2	158	149	- 9	6150	6017	- 133	5992	5868	- 124
3	72	63	- 9	6438	5664	- 774	6366	5600	- 766

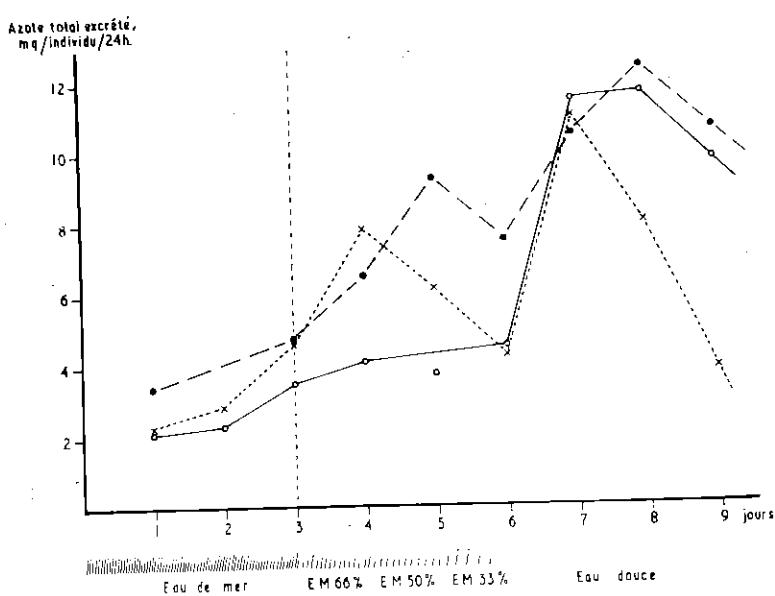


FIG. 1. — Variation de l'excrétion azotée au cours du passage de l'eau de mer à l'eau douce.

○—○ : individu n° 1 : ♂, 190 g, volume du milieu : 1.5 litre.  
●—● : individu n° 2 : ♀, 155 g, volume du milieu : 1.15 litre.  
×—× : individu n° 3 : ♂, 167 g, volume du milieu : 1.250 litre.

Deux jours après le transfert en eau douce, l'excrétion azotée diminue et revient au niveau de départ.

Au contraire, dans le cas des crabes accoutumés à l'eau douce (fig. 2), l'adaptation à des milieux de plus en plus concentrés s'accompagne d'une diminution de l'excrétion azotée, qui tombe à environ 1 mg d'azote/individu/24 h lorsque les animaux sont transférés dans de l'eau de mer. Deux jours après, la quantité d'azote excrété revient à la valeur initiale.

Le tableau II montre que l'azote des bases volatiles (probablement surtout  $\text{NH}_3$ ) constitue entre 60 % et 90 % de l'azote total excréte, lorsque l'animal demeure dans un milieu de salinité constante. Au cours de l'adaptation à des milieux plus concentrés, l'azote des bases volatiles constitue entre 90 et 100 % de l'azote total excréte. C'est donc vraisemblablement sous forme d' $\text{NH}_3$  uniquement que l'azote est excrété en période d'adaptation osmotique et de jeûne.

Fig. 2. — Variation de l'e

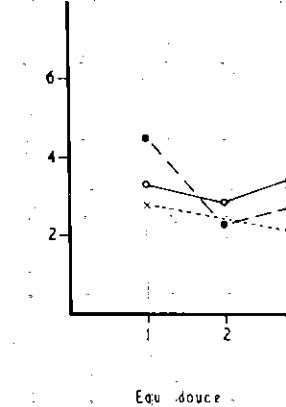


Fig. 2. — Variation de l'e

○—○ : individu n° 1  
●—● : individu n° 2  
×—× : individu n° 3

Remarquons que, tableau II, le retour lent que dans l'expérience comportement soit la tivité plus longue, ou tiques à quinze jour

On pourrait considération ou la diminution en acides aminés chement de la vitesse de l'un ou l'autre po de ce polypeptide a la composante ami augmentant cette SHAW (1958) a présenté en montrant que lomâtre, on n'observ

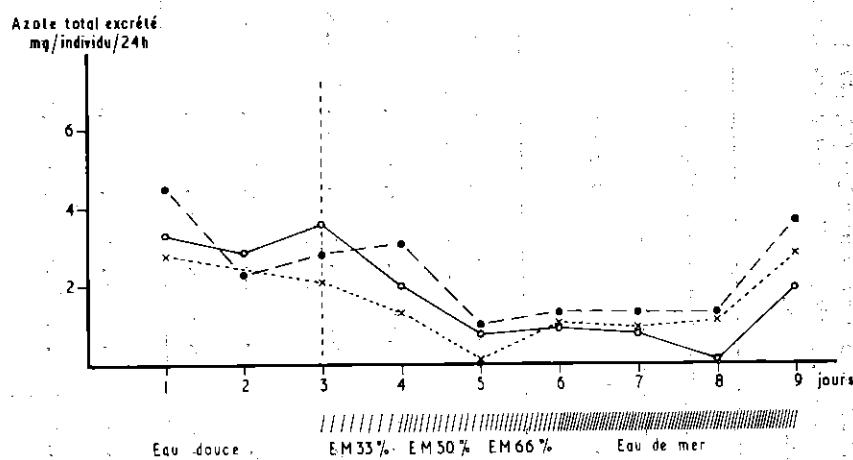


FIG. 2. — Variation de l'excrétion azotée au cours du passage de l'eau douce à l'eau de mer.

○—○ : individu n° 1, ♂, 155 g, volume du milieu : 1.15 litre.  
 ●—● : individu n° 2, ♂, 200 g, volume du milieu : 1.5 litre.  
 ×—× : individu n° 3, ♀, 115 g, volume du milieu : 0.9 litre.

Remarquons que, au cours de l'expérience relatée dans le tableau II, le retour à une excrétion azotée normale est plus lent que dans l'expérience de la figure 1. Il est possible que ce comportement soit la conséquence d'une conservation en captivité plus longue, ou de la difficulté de subir deux stress osmotiques à quinze jours d'intervalle.

### Discussion

On pourrait considérer la possibilité d'expliquer l'augmentation ou la diminution de la concentration intracellulaire en acides aminés chez les animaux euryhalins par un changement de la vitesse de turnover de l'une ou l'autre protéine ou de l'un ou l'autre polypeptide intracellulaire, la synthèse accrue de ce polypeptide ayant pour conséquence une diminution de la composante aminoacide intracellulaire, et son hydrolyse augmentant cette composante. Déjà, chez *Carcinus maenas*, SHAW (1958) a présenté un argument contre une telle conception, en montrant que lors du transfert de l'eau de mer à l'eau saumâtre, on n'observe pas d'augmentation de l'azote  $\alpha$ -aminé

TABLEAU II. — Modification de l'excrétion de l'azote total (N. tot.) et de l'azote des bases volatiles ( $N. NH_3$ ) au cours de l'adaptation osmotique de trois crabes chinois, de l'eau douce à l'eau de mer. Azote excreté en mg/24 h/individu. Volume de liquide par individu et par 24 heures : 1 litre.

Crabe N°	Sexe et poids		Nombre de jours après le début de l'expérience, et composition du milieu										
			Eau de mer				E.M. 66% E.M.				Eau douce		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	$\delta$ 155 g	N	3.14	2.27	3.60	—	7.70	10.10	9.80	11.80	11.71	11.80	—
		tot.	2.00	1.88	2.90	2.55	7.20	9.90	8.10	11.88	11.35	11.27	7.94
		$NH_3$	1.53	1.39	2.75	2.90	5.71	8.08	6.95	11.00	12.87	11.00	—
2	$\delta$ 200 g	N	2.43	1.89	3.32	3.70	6.20	9.20	6.95	11.00	12.87	11.00	—
		tot.	1.53	1.39	2.75	2.90	5.71	8.08	6.05	10.45	12.25	11.05	—
		$NH_3$	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
3	$\varphi$ 115 g	N	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
		tot.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		$NH_3$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

libéré par l'hydrolyse rapportées ci-dessus, l'augmentation de du muscle lors du pas accompagnée proline combinées, selon laquelle la végétale cellulaire relève de mènes de charge et par leur désamination cétoniques correspondantes dans le présent travail azotée est aussi en telle ou telle molécule protéines musculaires, le turnover des protéines pool des acides aminés stationnaire de ce niveau des phénomènes et le catabolisme.

Quelle est la nature des facteurs de son déclenchement ? Chez *Eriocheir sinensis*, les modifications, l'un que la régulation étroitemente, non seulement aussi de la composition, mais à partir de ces résultats, les variations de la concentration cellulaire s'accordent avec l'ionique intracellulaire de l'activité de certaines enzymes, le pool de l'azote total de l'expérimental étudié l'incorporation du pyruvate-1-<sup>14</sup>C dans le substrat, et dans l'intracellulaire sécrétion nerveuse ventrale indiquent que

libéré par l'hydrolyse de la fibre musculaire. Nos observations rapportées ci-dessus montrent que chez *Eriocheir sinensis* l'augmentation de la teneur en alanine et en proline libres du muscle lors du passage de l'eau douce à l'eau de mer n'est pas accompagnée par une diminution de lalanine et de la proline combinées. Ces observations sont en faveur de la vue selon laquelle la variation de la composante aminoacide intracellulaire relève d'une modification de l'équilibre des phénomènes de charge et de décharge, par synthèse des acides aminés et par leur désamination suivie de la métabolisation des acides cétoniques correspondants. La série d'observations rapportées dans le présent travail au sujet des variations de l'excrétion azotée est aussi en faveur de cette vue. Ceci ne signifie pas que telle ou telle molécule d'acide aminé ne peut provenir des protéines musculaires ou à l'inverse y être introduite, puisque le *turnover* des protéines musculaires s'alimente au niveau du pool des acides aminés libres. Notre conclusion est que l'état stationnaire de ce pool se trouve modifié par une action au niveau des phénomènes enzymatiques commandant la synthèse et le catabolisme des acides aminés.

Quelle est la modification mise en cause et quels sont les facteurs de son déclenchement ? En utilisant des nerfs isolés d'*Eriocheir sinensis* placés dans différentes conditions expérimentales, l'un de nous (SCHOFFENIELS, 1960) a montré que la régulation du pool des acides aminés libres dépend étroitement, non seulement de la pression osmotique, mais aussi de la composition ionique du liquide extracellulaire. A partir de ces résultats, l'hypothèse suivante a été formulée : les variations de la concentration ionique du liquide extracellulaire s'accompagnent d'une perturbation de l'équilibre ionique intracellulaire, avec pour conséquence une modification de l'activité de certains enzymes jouant un rôle important dans le pool de l'azote. Afin de mettre cette hypothèse à l'épreuve de l'expérimentation GILLES et SCHOFFENIELS (1964a, b) ont étudié l'incorporation de  $^{14}\text{C}$  dans les acides aminés en utilisant le pyruvate-1- $^{14}\text{C}$ , le pyruvate-2- $^{14}\text{C}$  et le glucose-6- $^{14}\text{C}$  comme substrat, et dans des conditions telles que l'équilibre ionique intracellulaire soit perturbé. Les résultats obtenus sur la chaîne nerveuse ventrale de *Homarus vulgaris*, une espèce sténohaline, indiquent que la vitesse d'incorporation du  $^{14}\text{C}$  est en effet

200 g	tot.	2.43	1.89	3.32	3.70	6.20	9.20	6.95	11.00	12.87	11.00	—
	N	1.53	1.39	2.75	2.90	5.71	8.08	6.05	10.45	12.25	11.05	—
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	N	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25
3	tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
	NH <sub>3</sub>	3.70	3.									

modifiée lorsque l'équilibre ionique intracellulaire est perturbé. Néanmoins la concentration totale du pool des acides aminés n'est pas modifiée, sauf lors d'une stimulation électrique prolongée. Dans une autre série d'expériences, il a également été montré qu'un enzyme jouant un rôle important dans le métabolisme des acides aminés, la déshydrogénase de l'acide L-glutamique est particulièrement sensible à la composition ionique du milieu d'incubation (SCHOFFENIELS et GILLES, 1963). Les résultats montrent en effet que l'activité enzymatique d'un extrait de muscle ou de branchie est différente selon les espèces anioniques et cationiques en question.

En ce qui concerne les anions, la série suivante a été établie par ordre d'activation décroissante (SCHOFFENIELS, 1964a) :  $\text{SO}_4^2-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , acétate, oxalate.

Pour les cations on a :

$\text{NH}_4^+$ , K et Na, Li.

Ces résultats, s'ils ne démontrent pas la validité de l'hypothèse sont toutefois en accord avec cette dernière.

Signalons enfin qu'outre son rôle osmorégulateur possible, la déshydrogénase de l'acide L-glutamique pourrait également intervenir dans les phénomènes de transport actif des ions inorganiques. L'intervention de cet enzyme pourrait alors expliquer les relations bien connues existant entre transport actif de Na et de Cl et excrétion de  $\text{NH}_4^+$  et de  $\text{HCO}_3^-$  au niveau d'organes excréteurs comme le rein et la branchie de certains poissons (SCHOFFENEELS et GILLES, 1963; FLORKIN et SCHOFFENIELS, 1964; SCHOFFENIELS, 1964 a, b).

A la lumière des résultats qui viennent d'être présentés, on peut proposer l'hypothèse selon laquelle la régulation du pool intracellulaire des acides aminés libres serait chez les euryhalins la conséquence d'une influence différente de la composition ionique de la cellule sur l'activité des systèmes responsables de la production des acides aminés d'une part et de leur catabolisme, d'autre part. Cette action différentielle étant absente chez les sténohalins, toute perturbation ionique intracellulaire s'accompagnerait alors d'une activation égale des systèmes de synthèse et de catabolisme avec pour conséquence une modification de la vitesse du turnover du pool des acides aminés sans altération de la concentration totale du pool (GILLES et SCHOFFENIELS, 1964b).

L'adaptation osmotique de l'eau douce, qui se traduit par la variation de la composante acide transitoirement d'une manière principalement sous la fonction au nouveau milieu initial.

Dans le cas de crabe, l'eau de mer est également dans le milieu intracellulaire, mais la concentration de la composante acide varie de manière à ce que la leucine libre des tissus musculaires en ces acides soit diminuée par l'osmose, ce qui plaide en faveur d'une accrue d'acides aminés dans le milieu extracellulaire. Partant d'une « réserve » d'acides aminés marquée de l'excrétion dans l'eau douce ——————> eau de mer, il existe une augmentation de la concentration d'acides aminés par suite d'une diminution de la concentration des acides aminés dans le milieu extracellulaire.

- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. (1962). — Arch. interne, **10**, 103.  
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. (1964a). — Arch. intern. biol., **53**, 103.  
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. (1964b). — Arch. intern. biol., **53**, 123.  
 DRACH, P. (1939). — Ann. Inst. Pasteur, **63**, 103.  
 DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. (1963). — Ann. Inst. Pasteur, **67**, 489.  
 DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. (1964). — Ann. Inst. Pasteur, **69**, 30.  
 FLORKIN, M. et SCHOFFENIELS, R. (1963) (sous presse).  
 GILLES, R. et SCHOFFENIELS, R. (1963). — Ann. Inst. Pasteur, **67**, 107.  
 JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. (1963). — Ann. Inst. Pasteur, **67**, 373.  
 JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. (1964). — Ann. Inst. Pasteur, **69**, 107.

### Conclusions

L'adaptation osmotique du crabe chinois de l'eau de mer à l'eau douce, qui se traduit par une diminution de concentration de la composante aminoacide intracellulaire, s'accompagne transitoirement d'une augmentation de l'excrétion azotée, principalement sous la forme d' $\text{NH}_3$ . Après deux jours d'adaptation au nouveau milieu, l'excrétion azotée revient à sa valeur initiale.

Dans le cas de crabes vivant en eau douce, l'adaptation à l'eau de mer est également caractérisée par une régulation du milieu intracellulaire, mettant en jeu l'augmentation de concentration de la composante aminoacide. La comparaison des variations de concentration de lalanine, de la proline et de la leucine libres des tissus musculaires, à celles des teneurs totales des muscles en ces acides aminés avant et après l'adaptation osmotique, plaide en faveur de l'hypothèse d'une synthèse accrue d'acides aminés plutôt que d'une livraison accélérée à partir d'une « réserve » protéique spécifique. La diminution marquée de l'excrétion azotée au cours de l'adaptation eau douce —————> eau de mer cadre également avec l'hypothèse d'une augmentation de la composante aminoacide intracellulaire par suite d'une diminution d'intensité des processus de dégradation des acides aminés.

### BIBLIOGRAPHIE

- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1962). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **70**, 273.  
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 116.  
 BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHATEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 267.  
 DRACH, P. (1939). — *Ann. Inst. Océanogr., Monaco*, **19**, 106.  
 DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 489.  
 DUCHATEAU, Gh., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 30.  
 FLORKIN, M. et SCHOFFENIELS, E. — *Biochemical Society Symposia*, Southampton, 1963 (sous presse).  
 GILLES, R. et SCHOFFENIELS, E. (1964a). — *Biochim. Biophys. Acta*, **82**, 518.  
 GILLES, R. et SCHOFFENIELS, E. (1964b). — *Biochim. Biophys. Acta*, **82**, 525.  
 JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1961). — *Cahiers Biol. Mar.*, **2**, 373.  
 JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1962). — *Cahiers Biol. Mar.*, **3**, 107.

- 1 JEUNIAUX, Ch., DUCHATEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *J. Biochem.*  
   (Jap.), **49**, 527.  
 2 JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internal. Physiol. Bioch.*, **69**, 385.  
 LYMAN, J. et FLEMING, R. (1940). — *J. Mar. Res.*, **3**, 134.  
 NEEDHAM, A. E. (1955). — *J. Embryol. Experim. Morphol.*, **3**, 189.  
 NEEDHAM, A. E. (1957). — *Physiol. Comparata Oecologia*, **4**, 209.  
 POTTS, W. T. W. (1958). — *J. Exp. Biol.*, **35**, 749.  
 SHAW, J. (1958). — *J. Exp. Biol.*, **35**, 920.  
 SCHOFFENIELS, E. (1960). — *Arch. internal. Physiol. Bioch.*, **68**, 1.  
 SCHOFFENIELS, E. (1964a). — *Life Sci.*, **3**, 845.  
 SCHOFFENIELS, E. (1964b). — in *Comparative Biochemistry* (Edited by M. FLORKIN  
   and H. S. MASON), Academic Press, New York, Vol. VII, Chapt. 3 (sous  
   presse).  
 SCHOFFENIELS, E. et GILLES, R. (1963). — *Life Sci.*, **2**, n° 11, 834.

**EXCERP**

Les EXCERPTA  
 extensif d'extraits de  
 immense de la méde-  
 20 sections qui font  
 formant une docum-

**PHYSIOLOGY,**  
Environ 1**ABSTR**  
Public

Nous désirons vous  
 dispose pour la traduct-  
 Nous vous prions de ne  
 recevrez un relevé du p-

**EXC**  
 119-123, Herengracht  
 AMSTERDAM (Holla-