

Reçu le 31 juillet 1964.

**RÉGULATION
INTRACELLULAIRE EN
ERIOCHEIR SINENSIS,
EN OSMOTIQUE**

DUCHÂTEAU-BOSSON,
JEUNIAUX et FLORKIN,
Université de Liège)

Eriocheir sinensis MILNE-
des milieux de concen-
la variation de salinité
exemple, au cours du
mer diluée deux fois),
variation de pression osmo-
s lorsque la variation
r (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
de concentration
(Na, K et Cl) participe
ence de 50 à 55 %.
cellulaires, 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 l'alanine, 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 α -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 ⁽¹⁾.

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 intermue (stade C₄: 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

⁽¹⁾ 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 cryscopique : — 2° 4), parée au laboratoire d'a (1940) et ajustée au pH lités de l'adaptation à donnés avec les résultats lieux ont été oxygénés p et renouvelés quotidienn en cours d'expérience.

2. — Prélèvement des é

On provoque l'autotomie chaque crabe étudié ; paire. On prélève les de chaque méropodite es la base d'un tendon, et On l'essore rapidement 30 secondes dans une s isotonique avec le sang pour les crabes venant pour les crabes adaptés le muscle sur papier filtr rasser des lambeaux d' les fibres musculaires c La masse musculaire p pesée sans délai, puis i de l'eau bouillante. L minutes. Une autre par la détermination du p totaux. Le temps con entre la dissection du dans l'eau bouillante m

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

Le dosage de l'alan ou totales des muscles

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 : $-2^{\circ}4$), 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 cisailée ; on saisit, au moyen de pinces, la base d'un tendon, et chaque muscle est arraché par traction. On essore rapidement sur papier filtre puis on l'agite 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 l'alanine, de la proline et de la leucine libres et totales des muscles.

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

miné résultant de l'hy-

ettre 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
tation à des milieux
une excrétion azotée
milieux hypertoniques
de l'excrétion azotée.
otée ont été observées
naenas.

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 intermue (stade C_4 :
rreurs dues aux varia-
de la manière suivante
ninés libres et totaux
e. Par autotomie, on
ce dernier est transféré
ux pattes sont utilisées
adaptation au milieu

d'une note préliminaire : cf.

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'excrétion azotée.*

Chaque solution, ayant contenu un crabe pendant 24 heures, est filtrée et son volume est mesuré. On prélève 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 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 l'alanine libre et de l'alanine 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. L'alanine et la proline sont en effet, chez cet animal, parmi les effecteurs osmotiques 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 en 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 qu'au passage de l'eau douce à l'eau de mer, l'augmentation marquée de l'alanine totale, accompagnée, dans les deux cas, d'une diminution de l'alanine libre et de la proline, signifie que la proline protéique des muscles a augmenté fortement. De même, alors que la teneur en alanine libre et en alanine protéique des muscles a augmenté fortement, la teneur en proline a également augmenté dans une moindre mesure. Ceci signifie que la proline protéique a augmenté.

Au contraire, dans le cas de l'adaptation à l'eau de mer, la leucine ne participe pas à l'osmolarité. La teneur en leucine totale de la période de 6 jours précédant le passage à l'eau de mer, n'a pas varié. Cette diminution de la teneur en leucine totale n'est donc pas attribuable au jeûne de cette période.

Ces résultats semblent prouver que la synthèse nette d'alanine et de proline à partir de la réserve intracellulaire est augmentée.

EXCRÉTION AZOTÉE AU COURS DE L'ADAPTATION OSMOTIQUE.

1. — *Dispositions expérimentales.*

Etant donné que le passage de l'eau douce à l'eau de mer provoque, chez le crabe, une augmentation de l'excrétion azotée, nous avons veillé à n'employer que des crabes adultes.

Au cours d'une première expérience, nous avons mesuré quotidiennement, pendant 6 jours, la teneur en alanine, en proline et en leucine dans des milieux contenant de l'eau de mer, enfin pendant

2. — Résultats.

Le tableau I montre que, au cours de l'adaptation à l'eau de mer, l'augmentation marquée de l'alanine libre est accompagnée, dans les deux cas étudiés, d'une augmentation parallèle de l'alanine totale. La différence entre les valeurs observées pour l'alanine libre et l'alanine 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 d'alanine et de proline au cours de l'adaptation osmotique tissulaire, plutôt qu'en faveur d'une libération d'alanine 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 vivants 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 jeun 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 excrété (après minéralisation) et la quantité d'azote excrété 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 excrété 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 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 (par différence : 2-1)

at chaque crabe était corporel.

trois crabes vivant uce ont été adaptés à esurée dans le milieu uis pendant le passage pendant 3 jours dans tribué quotidiennement ement de 750 ml pour

e limiter l'évaporation, es solutions n'ont pas è, de manière à éviter

uarium a été recueillie, ar les animaux étant que, elles sont facile- filtrées ont été utilisées i, après minéralisation. excrété par individu s 1 et 2.

, les trois crabes qui l'eau douce, et gardés a, ont été réadaptés à adaptation, on a mesuré l'excrété (après miné- é sous forme de bases isalisation). Les résultats

ue la quantité d'azote e de 2 à 4 mg par indi- on azotée est identique

a de mer sont adaptés quantité d'azote total moment du transfert 0 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 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 (par différence : 2-1)		
	a	b	variation	a	b	variation	a	b	variation
1	1764	2899	+1135	5582	6777	+1195	3818	3878	+ 60
	1794	3183	+1389	5633	6594	+ 961	3839	3410	- 429
3	Proline libre (1)			Proline totale (2)			Proline protéique (2-1)		
	a	b	variation	a	b	variation	a	b	variation
1	1966	2575	+ 609	4451	4614	+ 163	2485	2039	- 446
	953	1755	+ 802	3783	4531	+ 748	2830	2775	- 54
3	718	1446	+ 728	3707	4569	+ 862	2989	3123	+ 134
1	Leucine libre (1)			Leucine totale (2)			Leucine protéique (2-1)		
	a	b	variation	a	b	variation	a	b	variation
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

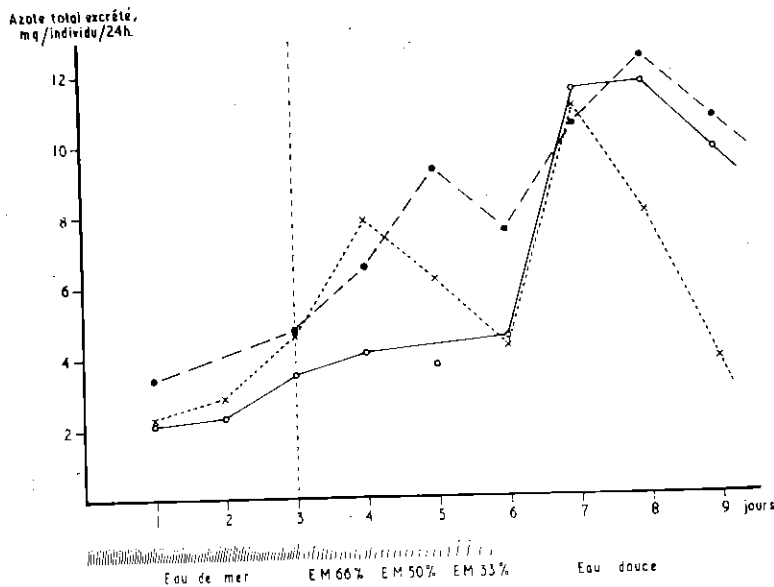


FIG. 1. — Variation de l'excrétion azotée au cours du passage de l'eau de mer à l'eau douce.

○—○ : 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 NH_3) constitue entre 60 % et 90 % de l'azote total excrété, 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 excrété. C'est donc vraisemblablement sous forme d' NH_3 uniquement que l'azote est excrété en période d'adaptation osmotique et de jeûne.

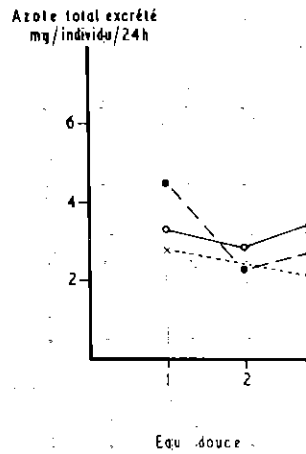


FIG. 2. — Variation de l'excrétion azotée en eau douce.

○—○ : 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.

Remarquons que, tableau II, le retour lent que dans l'expérience soit le comportement soit la durée plus longue, ou les techniques à quinze jours.

On pourrait constater l'adaptation ou la diminution en acides aminés chéminés de la vitesse de l'un ou l'autre polypeptide de ce polypeptide à la composante aminée augmentant cette dernière. SHAW (1958) a présenté en montrant que lorsqu'on mûre, on n'observe

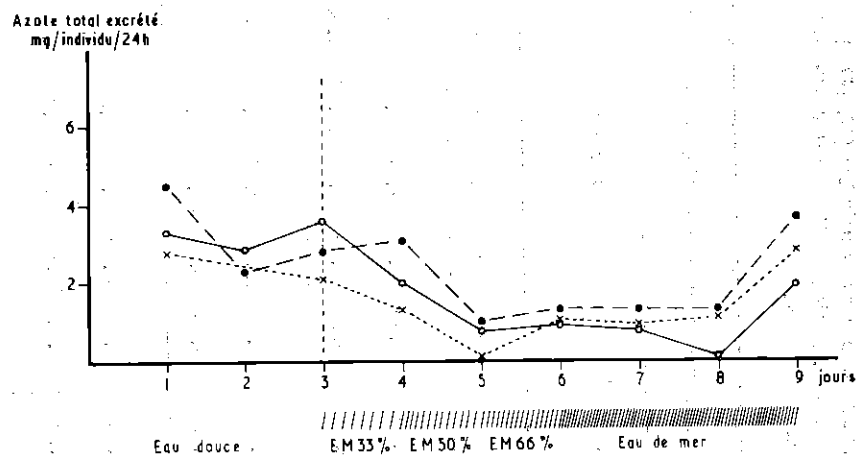


FIG. 2. — Variation de l'excrétion azotée au cours du passage de l'eau douce à l'eau de mer.

○—○ : 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 α -aminé

TABLEAU II. — Modification de l'excrétion de l'azote total (N. tot.) et de l'azote des bases volatiles (N. NH₃) au cours de l'adaptation osmotique de trois crabes chinois, de l'eau douce à l'eau de mer. Azote excrété en mg/24 h/individu. Volume de liquide par individu et par 24 heures : 1 litre.

Crabe No	Sexe et poids	Nombre de jours après le début de l'expérience, et composition du milieu											
		Eau de mer			E.M. 66%		E.M. 33%		Eau douce				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	♂ 155 g	N tot.	3.14	2.27	3.60	—	7.70	10.10	9.80	11.80	11.71	11.80	—
		N NH ₃	2.00	1.88	2.90	2.55	7.20	9.90	8.10	11.88	11.35	11.27	7.94
2	♂ 200 g	N tot.	2.43	1.89	3.32	3.70	6.20	9.20	6.95	11.00	12.87	11.00	—
		N NH ₃	1.53	1.39	2.75	2.90	5.71	8.08	6.05	10.45	12.25	11.05	—
3	♀ 115 g	N tot.	4.80	3.68	5.45	5.98	7.87	8.90	12.28	14.30	11.50	9.58	—
		N NH ₃	3.70	3.29	4.30	4.95	7.10	8.70	12.87	14.85	11.88	9.31	5.25

libéré par l'hydrolyse rapportées ci-dessus, l'augmentation de l'azote du muscle lors du pas accompagnée de proline combinées, selon laquelle la v. cellulaire relève de mènes de charge et et par leur désami cétoniques corres dans le présent t. azotée est aussi en telle ou telle molé téines musculaire. le turnover des pr pool des acides a stationnaire de c niveau des phéno et le catabolisme

Quelle est la m teurs de son dé d'*Eriocheir sinen* mentales, l'un que la régulation étroitement, non aussi de la com partir de ces rés les variations d cellulaire s'acco ionique intracell de l'activité de c le pool de l'azot de l'expérimenta étudié l'incorpor le pyruvate-1-¹⁴ substrat, et dan intracellulaire s nerveuse ventra indiquent que

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

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 l'alanine 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 ¹⁴C dans les acides aminés en utilisant le pyruvate-1-¹⁴C, le pyruvate-2-¹⁴C et le glucose-6-¹⁴C 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 ¹⁴C est en effet

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) : SO_4 , Cl, NO_3 , acétate, oxalate.

Pour les cations on a : 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 NH_4 et de HCO_3 au niveau d'organes excréteurs comme le rein et la branchie de certains poissons (SCHOFFENIELS et GILLES, 1963; FLÖRKIN 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 composition de la composante a osmotique transitoirement d'une composition principalement sous la forme de l'ion au nouveau milieu osmotique initiale.

Dans le cas de crabe l'eau de mer est également le milieu intracellulaire, mais la concentration de la composante a osmotique de la composition des variations de concentration de la leucine libres des tissus des muscles en ces acides aminés osmotique, plaide en faveur d'une accretion d'acides aminés à partir d'une « réserve » osmotique marquée de l'excrétion de l'eau douce ———> eau douce d'une augmentation de la concentration par suite d'une diminution de la concentration des acides aminés

- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1962). — *Arch. internat. Physiol.*, **70**, 107.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1964a). — *Arch. internat. Physiol.*, **72**, 107.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1964b). — *Arch. internat. Physiol.*, **72**, 107.
- DRACH, P. (1939). — *Ann. Inst. Pasteur*, **31**, 107.
- DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1964). — *Biochim. Biophys. Acta*, **67**, 489.
- DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1964). — *Biochim. Biophys. Acta*, **69**, 30.
- FLÖRKIN, M. et SCHOFFENIELS, R. (1963) (sous presse).
- GILLES, R. et SCHOFFENIELS, R. (1963). — *Biochim. Biophys. Acta*, **7**, 373.
- JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU, G., FLÖRKIN, M. (1964). — *Biochim. Biophys. Acta*, **3**, 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' 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 l'alanine, 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., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1962). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **70**, 273.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964a). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 116.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1964b). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **72**, 267.
- DRACH, P. (1939). — *Ann. Inst. Océanogr., Monaco*, **19**, 106.
- DUCHÂTEAU, Gh., FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 489.
- DUCHÂTEAU, 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., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *J. Biochem.*
 2 (*Jap.*), **49**, 527.
 JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 385.
 LYMAN, J. et FLEMING, R. (1940). — *J. Mar. Res.*, **3**, 134.
 3 NEEDHAM, A. E. (1955). — *J. Embryol. Experim. Morphol.*, **3**, 189.
 NEEDHAM, A. E. (1957). — *Physiol. Comparata Oecologia*, **4**, 209.
 4 POTTS, W. T. W. (1958). — *J. Exp. Biol.*, **35**, 749.
 SHAW, J. (1958). — *J. Exp. Biol.*, **35**, 920.
 5 SCHOFFENIELS, E. (1960). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **68**, 1.
 SCHOFFENIELS, E. (1964a). — *Life Sci.*, **3**, 845.
 6 SCHOFFENIELS, E. (1964b). — in *Comparative Biochemistry* (Edited by M. FLORKIN
 and H. S. MASON), Academic Press, New York, Vol. VII, Chapt. 3 (sous
 presse).
 7 SCHOFFENIELS, E. et GILLES, R. (1963). — *Life Sci.*, **2**, n° 11, 834.
 8
 9
 10
 11

EXCERPTA

Les EXCERPTA
 extensif d'extraits de
 immense de la médecine
 20 sections qui font
 formant une documentation

PHYSIOLOGY,

Environ 1000

ABSTRACTS

Public

Nous désirons vous
 dispose pour la traduction
 Nous vous prions de nous
 recevrez un relevé du matériel

EXCERPTA

119-123, Herengracht
 AMSTERDAM (Hollande)