

Reçu le 8 avril 1963

CONSTITUANTS OSMOTIQUEMENT ACTIFS  
DU SANG ET DES MUSCLES DU SCORPION  
*ANDROCTONUS AUSTRALIS* L.

PAR

S. BRICTEUX-GRÉGOIRE, Ch. DUCHÂTEAU-BOSSON, Ch. JEUNIAUX,  
E. SCHOFFENIELS ET M. FLORKIN

(Institut Léon Fredericq, Biochimie; Université de Liège)

Chez les Invertébrés marins, dont le milieu intérieur est en équilibre osmotique avec l'eau de mer, les constituants osmotiquement actifs du milieu intérieur sont principalement les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ . Au sein des cellules, les constituants osmotiquement actifs sont, pour une part plus ou moins grande, représentés par des molécules organiques et notamment par des acides aminés libres. La colonisation des eaux douces s'accompagne d'une capacité variable de maintien du milieu intérieur à une concentration supérieure à celle du milieu extérieur dilué (régulation anisosmotique). Dans la spéciation adaptative au milieu dilué des eaux douces et au milieu terrestre, la concentration intracellulaire est fixée par des mécanismes de régulation (régulation isosmotique) à un niveau d'autant plus bas que les capacités de la régulation anisosmotique du milieu intérieur sont plus faibles. C'est ce qui s'observe chez les Vertébrés dont la composante aminoacide intracellulaire s'est abaissée. Les Insectes ont, au contraire, conservé une valeur élevée de la composante aminoacide intracellulaire et ils ont tourné la difficulté que présente, dans les conditions de la vie terrestre, le maintien d'une natrémie et d'une chlorémie élevées, en acquérant une forte aminoacidémie. Les scorpions comptent parmi les plus anciens Arthropodes adaptés à la vie terrestre. Comme le montre le présent travail, les tissus (muscles) du scorpion *Androctonus australis* L. ont gardé la teneur élevée en acides aminés libres qui correspond au caractère ancestral des Arthropodes. Chez le scorpion étudié, l' aminoacidémie est très faible et les princi-

paux constituants osmotiquement actifs du plasma sanguin sont les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ .

### Matériel et méthodes

#### Matériel.

Les scorpions nous ont été aimablement envoyés par le Dr J. BALOZET, de l'Institut Pasteur d'Alger. Tous les exemplaires reçus étaient privés du dernier segment (telson) du post abdomen, portant le dard et la glande à venin. Les scorpions ont été conservés pendant 2 mois dans un terrarium dont la température, au niveau du sol, était maintenue à 40° C. Ils ont eu la possibilité de s'abreuver et de se nourrir (vers de farine) à discrétion.

Le sang a été prélevé par section des pattes et des chélicères. Il ne se coagule pas. Il a été utilisé tel quel pour la mesure de la tension de vapeur, et pour le dosage du Cl et des cations (tableau I). Dans un autre essai, on a préparé un filtrat trichloracétique pour la détermination du sodium, du calcium et du magnésium ; on a incinéré le plasma pour le dosage du potassium (tableau II). On a utilisé un dialysat contre eau distillée pour le dosage des acides aminés, de l'azote aminé et de l'azote total dialysables.

Aussitôt après le prélèvement du sang, on a procédé à l'ablation de la portion dorsale du mésosoma et du prosoma. On a enlevé tous les lobes de la glande digestive et le tube digestif. On a prélevé ensuite les muscles des chélicères, ainsi que ceux qui relient les endosternites aux tergites et aux sternites. D'autre part, on a isolé les faisceaux musculaires latéraux des segments du post-abdomen. Tous les muscles, éventuellement séparés de leurs tendons, ont été lavés rapidement (30 secondes) dans une solution physiologique isotonique, essorés sur papier filtre et pesés. Comme c'est le cas chez les Crustacés, on peut admettre que le matériel obtenu par cette méthode est constitué de fibres musculaires sans espace intercellulaire.

Une partie des muscles isolés a été utilisée pour la détermination du poids de résidu sec, puis incinérée au four à moufle en vue du dosage des éléments inorganiques. Le reste du matériel a été ébouillanté, broyé à l'homogénéiseur de Potter, puis dialysé en présence d'eau distillée, à 4° C.

#### Méthodes.

Dosage des acides selon MOORE, SPACEY (1957) porté sur des dialysats glutamique et à l'acide et leurs amides. Dosage par photométrie de flamme (un précédent mémoire) (pour Na, Ca, Mg) (pour le K) (tableau I) BOSSON, JEUNIAUX (1957).

Dosage des chlorures (1923).

Pression osmotique (mètre Mechrolab).

Azote total dialysables.

Azote aminé : méthode de sang et de purée de viande.

Tréhalose : méthode de sang (DUCHÂTEAU, 1957).

Les résultats sont résumés dans le tableau I qui donne la concentration osmotique par les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  du sang des Crustacés. Cette valeur est faible, voisine de celle de DUCHÂTEAU, SARLEAU, *Astacus fluviatilis* (1957) plus faible que les données de TEAU et FLORKIN, *Androctonus australis* jusqu'à présent étudié par le Centre de Recherches sur le tiqueur des Arthropodes (1957) n'en ont pas eu. À ce côté, nous n'avons pas

Méthodes.

Dosage des acides aminés dialysables : par chromatographie, selon MOORE, SPACKMAN et STEIN (1958). Les dosages ayant porté sur des dialysats hydrolysés, les valeurs relatives à l'acide glutamique et à l'acide aspartique concernent à la fois ces acides et leurs amides. Dosage du sodium, du potassium et du calcium : photométrie de flamme (tableau I); méthodes indiquées dans un précédent mémoire appliquées au filtrat trichloracétique (pour Na, Ca, Mg) ou au liquide de redissolution des cendres (pour le K) (tableau II) (BRICTEUX-GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1962).

Dosage des chlorures : méthode de VAN SLYKE et SENDROY (1923).

Pression osmotique : mesure de la pression de vapeur (Osmomètre Mechrolab).

Azote total dialysable : méthode de KJELDAHL sur les dialysats.

Azote aminé : méthode à la ninhydrine sur les dialysats de sang et de purée de muscles.

Tréhalose : méthode à l'anthrone sur un filtrat alcoolique de sang (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1959).

Résultats et discussion

Les résultats sont réunis dans les tableaux I et II. On voit dans le tableau I que les constituants dosés rendent compte de la concentration osmotique du plasma, assurée essentiellement par les ions Na+ et Cl-, comme c'est le cas pour le plasma sanguin des Crustacés. La teneur en acides aminés dialysables est faible, voisine de celle qu'on trouve chez le homard (CAMIEN, DUCHÂTEAU, SARLET et FLORKIN, 1951) ou chez l'écrevisse *Astacus fluviatilis* (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1954), et beaucoup plus faible que les valeurs observées chez les Insectes (DUCHÂTEAU et FLORKIN, 1958). Le plasma sanguin du scorpion *Androctonus australis* contient du tréhalose. Ce diholoside n'a jusqu'à présent été mis en évidence, au niveau du milieu intérieur des Arthropodes, que chez des Insectes. WYATT et KALF (1957) n'en ont pas trouvé dans le plasma du homard. De notre côté, nous n'avons pu le mettre en évidence dans le plasma du



TABLEAU I. — *Androctonus australis* L.

Muscle (poids de résidu sec : 17 p. 100).

	mg/100 g de poids frais	mOsm/100 g de poids frais	mOsm/litre d'eau
1. Na .....	166.1	7.2	86.7
2. K .....	172.4	4.4	53.0
3. Ca .....	6.4	0.16	1.9
4. N total non protéique .....	398	28.4	342
5. N aminé (ninhydrine) .....	133	9.5	114
6. 1 + 2 + 3 + 4 .....			483.6

Plasma sanguin ( $\Delta = 0.99^\circ$ ; 530 mOsm/l).

	mg/100 ml	mOsm/l
7. Na .....	604.9	263
8. K .....	30.8	8.0
9. Ca .....	9.7	2.4
10. Cl .....	947.9	267
11. N total non protéique .....	41.0	29.0
12. N aminé (ninhydrine) .....	10.0	7.0
13. 7 + 8 + 9 + 10 + 11		569.4

Les constituants inorganiques ont été déterminés sur le sang et les muscles d'un même scorpion (♀).

L'azote total et l'azote aminé ont été dosés sur le sang et sur les muscles d'un autre individu du même lot et du même sexe.

scorpion *Androctonus*  
on osmolaire du sang  
ad à un abaissement  
e concentration osmo-  
pond aux chiffres les  
correspond à une con-  
lus forte que celle du  
du sang est couverte  
rganiques, en consti-  
La concentration en  
100 ml); parmi les  
e dans le sang n'était  
ns le plasma sanguin,  
nt presque totalement  
minés y jouent un rôle  
tuants osmotiquement  
otées qui passent dans

le dialysat, le sodium et le potassium. Les acides aminés libres fournissent environ 1/3 de la composante azotée. Ils assurent environ 1/5 de la pression osmotique intracellulaire. Leur concentration, par rapport au poids de tissu frais, est voisine de celle qu'on a déterminée dans les tissus d'un Insecte, *Bombyx mori*, au 5<sup>e</sup> âge larvaire. Le *pattern* de la composante aminoacide libre des muscles d'*Androctonus* se distingue par la proportion élevée d'arginine (1) et d'acide glutamique total (libre et sous forme de glutamine). C'est là une forme de *pattern* qui n'a pas été signalée jusqu'à présent.

La taurine existe dans les muscles d'*Androctonus* à la con-

(1) Dans les conditions adoptées, la phosphoarginine est hydrolysée et apparaît dans les dosages sous la forme d'arginine.

TABLEAU II. — Constituants osmotiquement actifs du plasma de l'hémolymphe et des muscles d'*Androctonus australis L.* et de *Bombyx mori L.*

Acides aminés libres	Plasma		Muscles	
	<i>Androctonus</i>	<i>Bombyx</i> (1)	<i>Androctonus</i>	<i>Bombyx</i> (1)
	mg/100 ml	mM/l	mg/100 g de tissus frais	mM/l d'eau
Alanine	2.48	0.28	43.0	6.61
Arginine	4.92	0.28	395	6.31
Acide aspartique total	3.32	0.25	23.0	10.74
Acide glutamique total	15.80	1.08	210	39.08
Glycocolle	5.37	0.72	50.5	9.14
Histidine	1.60	0.10	25.1	2.17
Isoleucine	1.26	0.10	5.46	1.72
Leucine	0.97	0.07	8.60	1.82
Lysine	2.96	0.20	18.8	0.36
Phénylalanine	1.61	0.10	9.07	1.28
Proline	9.40	0.82	15.6	1.64
Sérine	4.28	0.41	23.7	2.74
Thréonine	3.44	0.29	31.8	4.24
Tyrosine	1.64	0.09	5.37	1.22
Valine	3.49	0.30	20.0	1.74
Somme	62.54	5.09	886.0	99.61
N dialysable total	20.5	14.6	311	269
Taurine	40.3	3.22	462	44.8
Na	752.25	327.1		
K	16.48	4.2		
Ca	41.85	10.5		
Mg	10.09	4.2		
Somme des constituants inorganiques	346			
Tréhalose	28.75	0.8		

(1) Valeurs calculées d'après les données de DUCHÂTEAU et FLORKIN (1955) et de BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN (1959), pour un échantillon d'hémolymphe de vers à soie au 5<sup>e</sup> âge larvaire.

centration de 462 m à la pression osmotique celle de l'arginine ou plasma sanguin, sa taurine est présente à une concentration analogue à celle de MACK, LEES et WOOD (1952) chez *rubens* (JEUNIAUX, 1952) et à une concentration plus élevée que celle de *sinensis* (BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN, 1962).

Le scorpion *Androctonus australis* en vie terrestre, possède une pression osmotique dont la pression osmotique est de  $-1^{\circ}\text{C}$ . Cette pression osmotique est principalement déterminée par le sodium et les composés organiques azotés. La concentration de sodium est à la concentration osmotique est analogue à celle de *Androctonus* mais différente de celle qui est observée dans une aminoacidémie expérimentale.

La concentration de sodium dans le sang, est relativement élevée. Cette situation est caractéristique chez la plupart des scorpions.

Au point de vue osmotique, le scorpion se distingue par sa tréhalose dans le plasma.

The osmotic pressure of *Androctonus australis* in life, is about  $-1^{\circ}\text{C}$ .

Tyrosine	1.09	0.09	0.10	0.07	1.74
Valine	3.49	0.30	1.63	2.07	1.74
Somme	62.54	5.09	81.65	886.0	99.61
N dialysable total	20.5	14.6	76.31	311	269
Taurine	40.3	3.22	462	462	44.8
Na	752.25	327.1			
K	16.48	4.2			
Ca	41.85	10.5			
Mg	10.09	4.2			
Somme des constituants inorganiques	346	346			
Tréhalose	28.75	0.8			

(1) Valeurs calculées d'après les données de DUCHÂTEAU et FLORKIN (1955) et de BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN (1959), pour un échantillon d'hémolymphe de vers à soie au 5<sup>e</sup> âge larvaire.

centration de 462 mg p. 100 g de tissu frais. Sa contribution à la pression osmotique intracellulaire est plus importante que celle de l'arginine ou de l'acide glutamique total. Dans le plasma sanguin, sa concentration est dix fois moindre. La taurine est présente dans les muscles d'*Androctonus* à une concentration analogue à celle des muscles du homard (KERMACK, LEES et WOOD, 1955) et des cœcums gastriques d'*Asterias rubens* (JEUNIAUX, BRICTEUX-GRÉGOIRE et FLORKIN, 1962) et à une concentration plus élevée que dans les muscles d'*Eriocheir sinensis* (BRICTEUX-GRÉGOIRE, DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1962).

Résumé

Le scorpion *Androctonus australis*, Arthropode adapté à la vie terrestre, possède comme les Insectes un milieu intérieur dont la pression osmotique est relativement élevée, et voisine de -1° C. Cette pression osmotique est assurée presque entièrement par le sodium et le chlore, tandis que les molécules organiques azotées ne participent que d'une façon négligeable à la concentration osmolaire de l'hémolymphe. Cette situation est analogue à celle qui prévaut chez les Crustacés, et est très différente de celle qu'on observe chez les Insectes, caractérisés par une aminoacidémie élevée.

La concentration osmolaire intracellulaire du scorpion, dont le niveau est relativement élevé puisqu'il correspond à celui du sang, est principalement assurée par de petites molécules azotées, parmi lesquelles les acides aminés libres occupent une place importante (1/5 de la composition osmolaire globale). Cette situation est analogue à celle que nous avons rencontrée chez la plupart des Invertébrés.

Au point de vue de la nature du matériel glucidique circulant, le scorpion se rapproche des Insectes par la présence de tréhalose dans le plasma sanguin.

Summary

The osmotic pressure of the hemolymph of the scorpion *Androctonus australis* L., an Arthropod adapted to terrestrial life, is about -1° C. This osmotic pressure results almost

entirely from the presence of  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$ , a situation thus analogous to that found in Crustaceans, but different to that found in Insects, since, in the latter, amino acids are important osmotic constituents. In the scorpion studied, the osmotically active intracellular constituents are mainly low molecular weight nitrogenous molecules, among which amino acids represent 1/5 of the osmolar concentration. As far as blood sugar is concerned, the scorpion's blood, like that of Insects, contains trehalose.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARLOW, J. S. et HOUSE, H. L. (1960). — *J. Insect Physiol.*, **5**, 181.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 29.
- BRICTEUX-GRÉGOIRE, S., DUCHÂTEAU-BOSSON, Ch., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1962). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **70**, 273.
- BUCK, J. B. (1953). — in *Insect Physiology* (Ed. by K. D. Roeder), New York, J. Wiley and Sons, pp. 147-190.
- CAMIEN, M. N., DUCHÂTEAU, Gh., SARLET, H. 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**, 35.
- DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 573.
- DUCHÂTEAU, Gh. et FLORKIN, M. (1959). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **67**, 306.
- EVANS, D. R. et DETHIER, V. G. (1957). — *J. Insect Physiol.*, **1**, 3.
- JEUNIAUX, Ch., BRICTEUX-GRÉGOIRE, S. et FLORKIN, M. (1962). — *Cah. de Biol. Mar.*, **3**, 107.
- KERMACK, W. O., LEES, H. et WOOD, J. D. (1955). — *Bioch. J.*, **60**, 424.
- MOORE, S., SPACKMAN, D. H. et STEIN, W. H. (1958). — *Anal. Chem.*, **30**, 1185.
- VAN SLYKE, D. D. et SENDROY, J. (1929). — *J. Biol. Chem.*, **84**, 217.
- WYATT, G. R. et KALF, G. F. (1957). — *J. Gen. Physiol.*, **40**, 833.

## EXCERPTA

Les EXCERPTA  
extensif d'extraits  
immense de la mée  
20 sections qui for  
formant une docum

PHYSIOLOGY,  
Environ  
ABST  
Publ

Nous désirons vous  
pose pour la traducti  
Nous vous prions de  
recevrez un relevé du

EX  
119-123, Herengracht  
AMSTERDAM (Hollan