

ACIDES AMINES LIBRES ET PROTEIQUES CHEZ LE SIPHONOPHORE *FORSKALIA EDWARDSI*

RAOUL DAUMAS et HUBERT J. CECCALDI

Station marine d'Endoume, 13007 Marseille, France
et Ecole Pratique des Hautes Etudes, Marseille, France

(Received 13 September 1972)

Résumé—1. Le Siphonophore Physonecte *Forskalia edwardsi* a été étudié du point de vue de la composition en acides aminés libres et protéiques. Les différentes parties ont été analysées séparément: gastrozoïdes, dactylozoïdes, cloches natatoires, deux types de bractées, filaments pêcheurs, et stolon.

2. Les différentes parties de la colonie montrent des rapports: azote/matière organique compris entre 2 pour cent pour les cloches natatoires et 17 pour cent pour les dactylozoïdes et les filaments pêcheurs.

3. Le rapport acides aminés totaux/matière organique varie de 4 pour cent dans les cloches natatoires à 90 pour cent dans les filaments pêcheurs.

4. Le rapport acides aminés libres/acides aminés totaux est compris entre 7 pour cent et 23 pour cent.

5. Parmi les acides aminés libres, une forte teneur en taurine peut être notée; elle atteint 56 pour cent dans le stolon et 35 pour cent dans les bractées rondes et les cloches natatoires. L'alanine représente 21 pour cent des acides aminés libres dans les cloches natatoires alors qu'elle ne dépasse pas 4,5 pour cent dans les autres organes.

6. Parmi les acides aminés protéiques, l'acide glutamique constitue 49 pour cent des acides aminés dans les filaments pêcheurs, alors qu'il ne dépasse pas 23 pour cent dans les autres parties du Siphonophore.

Abstract—1. The Siphonophore Physonect *Forskalia edwardsi* was studied from the point of view of protein and free amino acid composition. Its different parts were studied separately.

2. Different parts of the colony show widely differing ratios of nitrogen/organic matter.

3. The ratio of total amino acids/organic matter varies considerably from about 4 per cent in swimming bells to 90 per cent in fishing filaments, and non-protein nitrogenous substances have a high level.

4. The ratio of free amino acids/total amino acids comprises between 7 and 23 per cent.

5. Of the free amino acids, a high level of taurine is seen, up to 56 per cent in the stolon and 35 per cent in round bractea and swimming bells. Alanine reaches 21 per cent in swimming bells but no more than 4.5 per cent in other organs.

6. Of the protein amino acids, glutamic acid has a level of 49 per cent in fishing filaments, and no more than 23 per cent in other parts of the Siphonophore.

INTRODUCTION

LE SIPHONOPHORE *Forskalia edwardsi* Kolliker 1853 est un organisme macroplanctonique qui, sans être banal, est assez fréquent à certaines périodes de l'année sur les côtes nord méditerranéennes.

Les travaux que cet animal a suscités sont, à l'instar des autres Siphonophores, surtout consacrés à la morphologie (Totton, 1965) à la distribution et, sauf exceptions (Ceccaldi & Dumas, 1967), ne sont guère orientés vers des études physiologiques ou biochimiques. De notables obstacles, telles les difficultés de la récolte ou du maintien en aquarium par exemple, ont empêché le développement d'études portant sur des données de chimie biologique dans ce groupe d'animaux.

Pourtant les observations biologiques que l'on est amené à faire pourraient souvent se voir heureusement complétées par d'autres données, par exemple des analyses biochimiques.

METHODES ET TECHNIQUES

L'essentiel des méthodes et des techniques a été publié dans un précédent travail (Daumas & Ceccaldi, 1965).

La technique de récolte en plongée a été décrite précédemment (Ceccaldi, 1962). L'observation *in situ* des animaux vivants a été réalisée en plongée libre, avec vêtements isothermes, palmes, masque et tuba. Les colonies de grande taille sont disposées, après la récolte, dans un aquarium, où elles sont disséquées à l'aide de pinces métalliques fines en leurs éléments constitutifs: cloches natatoires du nectosome, bractées arrondies, bractées allongées, gastrozoïdes, dactylozoïdes, filaments pêcheurs, stolon.

En raison de leur fragilité il n'a parfois pas été possible d'isoler complètement des restes de bractées et certains dactylozoïdes, d'une part, les gastrozoïdes et certains filaments pêcheurs d'autre part. L'animal analysé dans ce travail mesurait à l'état contracté 70 cm de longueur.

Les différentes parties ont été placées dans les ampoules et lyophilisées aussitôt.

OBSERVATIONS BIOLOGIQUES

Les ouvrages consacrés aux Siphonophores Physonectes représentent très généralement ces animaux, leur stolon maintenu vertical, le pneumatophore situé à la partie supérieure de la colonie.

Les observations effectuées dans le milieu marin infirment cette façon de représenter ces animaux. En effet, on peut distinguer trois types de comportements chez les *Forskalia* immergés en mer.

Comportement de pêche

La colonie atteint alors sa longueur maximale. Le stolon est généralement dans un plan horizontal, suivant une forme plus ou moins sinueuse. Les filaments pêcheurs jouent leur rôle, et on les voit descendre sous l'action de leur propre poids et remonter verticalement, assez activement, chaque fois qu'une proie a été atteinte. Toutefois, un certain nombre de filaments pêcheurs s'écartent notablement de la position verticale. L'ensemble de la colonie peut, soit demeurer pratiquement immobile, soit se déplacer le nectosome en avant, tirant le stolon derrière lui, soit se déplacer les cloches natatoires situées vers l'arrière. Ce type de nage avait été précédemment décrit (Mackie, 1964) chez *Nanomia bijuga*, mais jamais chez *Forskalia*. Dans les deux cas, les vitesses observées sont importantes, de l'ordre de 1-15 cm/sec. Ces faibles déplacements permettent aux filaments pêcheurs qui montent et descendent sans relâche, d'explorer un volume d'eau maximal. A l'approche lente d'un

objet inerte: morceau de bois, de matière plastique, de caoutchouc, le stolon se déforme afin d'éviter d'entrer en contact avec le nouvel obstacle. Immédiatement les filaments pêcheurs qui sont au voisinage de la zone touchée remontent.

Comportement d'attente

Si des ébranlements se produisent dans l'eau, par suite de battements de pieds des observateurs, de plongeurs, de contact avec la colonie, le stolon se rétrécit légèrement et les filaments pêcheurs se contractent tous. Les cloches natatoires se mettent parfois en œuvre, et la colonie se déplace, le plus souvent dans le sens horizontal, le pneumatophore vers l'avant. Dans ce cas, le *Forskalia* atteint une vitesse de 2 à 3 cm/sec. Dans le sac en matière plastique, après la récolte, la vitesse de déplacement est de 4-5 cm/sec.

Comportement de fuite

Si la colonie est heurtée fortement, et si l'on tente de la saisir par exemple, le stolon se contracte très fortement; les cormidies deviennent jointives, et les cloches natatoires se mettent en œuvre de façon plus violente: le *Forskalia*, atteint alors la vitesse de 8-10 cm/sec. Son déplacement peut se produire dans n'importe quel plan mais dans la plupart des cas, il se dirige horizontalement.

Ces observations permettent donc de confirmer, au moins partiellement, que le rôle de flotteur joué par le pneumatophore est bien faible (Ceccaldi & Daumas, 1967), puisque l'animal se déplace le plus souvent horizontalement.

Ce n'est qu'exceptionnellement, lorsque les animaux sont près de la surface, tous leurs filaments pêcheurs rentrés, qu'ils ont leur pneumatophore à la partie supérieure de la colonie.

Il faut donc chercher vers une autre voie l'explication de la flottabilité nulle de la colonie. L'observation de l'organisme en aquarium permet d'apporter un élément de réponse.

En effet, en raison de sa fragilité, la colonie perd, ne serait-ce qu'au cours des très prudentes manipulations pour les mettre en place dans l'aquarium, des bractées et des cloches.

Ces éléments flottent très aisément, alors que le stolon, ayant perdu ces individus, coule vers le fond du récipient, en raison de sa plus forte densité. Il faut donc en conclure que le stolon, plus lourd, est soutenu sur toute sa longueur par des organes plus légers: les bractées de chaque cormidie.

Cette observation suffit à montrer les différences qui existent entre les différents "zoides" d'une même colonie. Il sera possible d'avoir des précisions sur les constitutions et le rôle des éléments d'une colonie en effectuant l'analyse comparée des fractions azotées:

- la partie protéique représentant les zones à haute activité métabolique.
- les acides aminés libres jouant un rôle important dans l'équilibre osmotique de l'individu (Awapara, 1962).
- la fraction azotée ne correspondant pas à des acides aminés peut être liée à des produits de déchet ou des substances de réserve.

RESULTATS

(1) *Les différentes fractions azotées*

A priori, on pouvait supposer que les individus de la colonie, tous fixés plus ou moins directement au stolon, présenteraient des compositions assez voisines les unes des autres.

Les résultats regroupés dans le Tableau 1 font apparaître des différences sensibles.

TABLEAU 1—RÉPARTITION DE LA MATIÈRE AZOTÉE DANS LES DIFFÉRENTES PARTIES D'UNE COLONIE DE *F. edwardsi*

Partie analysée (individus ou organes)	Azote	Acides aminés	Azote des acides aminés	Acides aminés libres
	Matière organique (%)	Matière organique (%)	Azote total (%)	Acides aminés totaux (%)
Stolon	10,6	52,0	78	13,1
Dactylozoïdes	17,7	28,8	25	24,7
Gastrozoïdes	10,7	54,0	80	23,4
Filaments pêcheurs	17,3	90,4	83	6,5
Cloches natatoires	2,0	4,7	37	18,2
Bractées longues	—	53,4	—	7,9
Bractées rondes	—	18,1	—	15,6
Gonozoïdes	15,5	30,1	30	16,8

TABLEAU 2—ACIDES AMINÉS LIBRES DANS LES DIFFÉRENTES PARTIES DE *F. edwardsi*

Acides aminés	Stolon	Dactylo- zoïdes + bractées	Gastro- zoïdes	Filaments pêcheurs	Cloches natatoires	Bractées longues	Bractées rondes
Arg	10,5	3,7	4,6	7,0	0,9	16,7	3,5
Lys	1,3	2,7	3,6	1,5	0,5	2,5	1,5
His	1,1	1,5	1,7	1,0	0,5	2,1	1,1
Orn	—	Tr.	0,1	0,2	0,9	—	1,1
Asp	0,5	3,2	2,2	7,2	1,3	4,1	1,5
Asp-NH ₂	5,2	—	8,7	11,5	13,0	—	6,0
Glu-NH ₂							
Glu	4,6	11,4	11,3	13,7	14,0	17,4	12,3
Thr	1,4	6,4	3,1	6,5	0,7	4,5	3,1
Ser	2,5	3,1	4,2	4,3	3,5	9,0	6,1
Pro	1,7	—	5,0	—	—	—	—
Gly	3,0	5,3	5,0	1,3	2,8	10,1	5,6
Ala	2,6	4,2	4,2	1,4	21,6	7,3	3,9
Val	1,3	4,2	4,1	0,9	—	3,5	2,8
Ile	1,7	3,9	4,5	1,3	0,6	2,8	3,3
Leu	2,0	5,5	5,8	2,9	0,5	4,5	3,9
Cys	0,2	—	—	7,1	—	1,2	2,6
Met	1,1	0,9	2,4	9,3	—	—	—
Taurine	56,7	23,8	12,5	23,2	38,0	7,9	35,4
Tyr	1,2	6,5	4,5	3,2	0,5	4,5	3,5
Phe	1,2	12,8	10,1	2,7	0,4	—	2,4

Les concentrations de chaque acide aminé sont exprimées en pourcentage des acides aminés libres totaux.

En raison de la faible quantité de matière disponible, certaines analyses n'ont pu être menées à leur terme (bractées).

Il convient de noter, en premier lieu, les différences portant sur la concentration en matériel azoté des différentes parties de la colonie: les valeurs les plus faibles s'observent pour les cloches natatoires, un taux de 10 pour cent est constaté pour les gastrozoïdes et le stolon, et des valeurs de l'ordre de 17 pour cent pour les dactylozoïdes et les filaments pêcheurs.

Le matériel azoté est presque exclusivement constitué d'acides aminés libres ou protéiques dans les filaments pêcheurs, les gastrozoïdes et le stolon. Les dactylozoïdes ne renferment par contre qu'un quart de l'azote sous forme d'acides aminés. La proportion est un peu plus élevée dans les cloches natatoires.

Les acides aminés libres sont présents dans tous les "zoïdes" de la colonie mais dans des proportions variables; ils sont très abondants dans les gastrozoïdes et les dactylozoïdes mais représentent moins du 1/10ème des acides aminés dans les filaments pêcheurs et les bractées longues.

(2) Les acides aminés libres et protéiques

Les protéines des divers individus de la colonie présentent des compositions en acides aminés assez voisines, sauf toutefois en ce qui concerne les protéines

TABLEAU 3—ACIDES AMINÉS PROTÉIQUES DANS LES DIFFÉRENTES PARTIES DE *F. edwardsi*

Acides aminés	Stolon	Dactylozoïdes + bractées	Gastrozoïdes	Filaments pêcheurs	Cloches natatoires	Bractées longues	Bractées rondes
Arg	6,5	4,6	5,1	3,0	6,2	6,0	5,9
Lys	9,1	8,5	8,1	4,2	7,6	6,7	6,9
His	2,1	2,9	2,9	2,1	1,7	2,2	2,2
Asp	11,8	9,8	9,3	5,8	11,4	9,9	9,4
Glu	17,6	15,5	23,0	49,2	20,5	18,4	21,8
Thr	5,4	4,1	5,2	2,6	5,4	4,6	4,6
Ser	5,2	6,1	4,4	2,8	5,2	5,9	5,1
Pro	4,1	8,5	5,6	6,1	4,0	6,1	5,5
Gly	6,2	7,1	7,2	6,5	7,4	10,6	8,6
Ala	6,4	5,5	5,5	4,2	1,4	5,4	5,1
Val	4,7	5,2	4,1	2,6	4,6	2,3	4,0
Ile	4,4	2,8	3,5	2,4	4,2	3,4	2,8
Leu	7,4	5,3	5,3	3,9	7,8	5,6	5,1
Cys	0,6	4,1	2,5	0,1	—	3,5	4,1
Met	0,7	—	0,2	0,3	0,5	1,0	—
Taurine	—	1,9	3,2	—	—	—	0,3
Tyr	3,5	4,0	2,5	1,7	3,6	3,1	2,4
Phe	3,9	3,4	0,7	2,0	4,2	3,5	3,0

Les concentrations de chaque acide aminé sont exprimées en pourcentage des acides aminés libres totaux

des filaments pêcheurs qui contiennent 49,2 pour cent d'acide glutamique (Tableau 3).

Les acides aminés libres (Tableau 2) montrent beaucoup plus de variations dans leur composition mais le "pool" est dominé par la taurine dont le taux varie entre 56,7 et 12,5 pour cent parties d'acides aminés libres. Les bractées longues font exception avec un chiffre relativement faible de taurine.

L'alanine présente une valeur très élevée dans les cloches natatoires, alors que l'acide glutamique est fréquemment trouvé à des chiffres compris entre 10 et 20 pour cent du total.

Enfin la présence d'un taux élevé d'arginine libre doit être mentionné dans le stolon et dans les bractées longues.

DISCUSSION

Le stolon, tube creux destiné à supporter et à faire communiquer entre eux les différents éléments de la colonie, apparaît à la vue de ces résultats comme un élément dense dont la moitié de la matière organique est constituée de protéines, mais qui renferme également 6,7 pour cent d'acides aminés sous forme libre et 10 pour cent de matières azotées autres que des acides aminés.

Le fort taux de taurine libre que l'on rencontre dans le stolon peut être relié à deux fonctions possibles de cet organe: grande activité métabolique et rôle d'organe d'accumulation.

Il est à noter également le pourcentage élevé d'arginine libre, qui est peut être le reflet de la rupture de phosphagène arginine phosphate.

Les dactylozoïdes possèdent le plus fort taux d'azote de tous les individus de la colonie. En fait, cet organe ne contient que 28,8 pour cent d'acides aminés totaux, dont le quart est sous forme libre. L'azote contenu dans ces individus est donc non protéique pour sa plus grande partie; et il est permis de supposer qu'il s'agit de produits de déchets; ceci confirmerait l'hypothèse selon laquelle les dactylozoïdes sont spécialisés vers une fonction d'excrétion, et incite à de nouvelles recherches dans cette voie.

Les gastrozoïdes dont la fraction azotée équivaut à 66,8 pour cent d'azote protéique ne contient en fait que 54 pour cent d'acides aminés totaux dont 23 pour cent sont sous forme libre. Tous les acides aminés sont présents suivant un taux équilibré.

Les filaments pêcheurs contiennent un très fort taux d'azote représenté en grande partie par des acides aminés protéiques. La fraction azotée non protéique doit être constituée notamment par les toxines contenues dans les cnidoblastes.

La constitution de la partie protéique fait apparaître un taux très élevé d'acide glutamique, 49,2 pour cent, ce qui en fait une protéine fortement électronégative, et la fait ressembler aux prolamines. Il convient de rappeler ici les remarquables propriétés élastiques de ces éléments qui peuvent réduire leur longueur dans des proportions considérables, de l'ordre de 1 à 50 par exemple.

Les cloches natatoires se caractérisent par une fraction azotée extrêmement faible et dont la plus grande partie est formée de molécules autres que les acides aminés. Il s'agit vraisemblablement d'amines.

Bien qu'appartenant aux mêmes cormidies, les deux types de bractées montrent des compositions chimiques fort différentes l'une de l'autre. Ces différences qui portent tant sur la richesse en protéine que sur la fraction libre des acides aminés, n'ont pas fait l'objet d'une étude suffisante. Cela est dû à la difficulté de séparer les bractées des autres éléments de la colonie.

La comparaison des divers résultats obtenus permet de constater les ressemblances existant entre le stolon et les gastrozoïdes, d'une part, les dactylozoïdes et les filaments pêcheurs d'autre part. Par contre les bractées longues, et surtout les cloches natatoires possèdent des compositions qui les éloignent nettement des autres éléments de la colonie. Ces résultats peuvent apporter des éléments utiles pour des études consacrées à l'évolution de ce groupe zoologique.

La richesse en acides aminés libres chez les invertébrés marins et notamment dans le groupe des siphonophores avait été signalée lors de précédentes études (Ceccaldi & Daumas, 1967) mais les relations pouvant exister entre une fonction métabolique et le taux d'acides aminés libres n'avaient pu être précisées. En nous adressant à une colonie de *Forskalia*, cette étude devenait accessible chez des individus aussi primitifs que les Siphonophores. Le "pool" d'acides aminés libres, dominé par la taurine et l'acide glutamique, participe à la régulation de la pression osmotique intracellulaire par des mécanismes qui ne sont pas encore bien établis (Allen & Garrett, 1971). Toutefois le fait que certains acides aminés libres sont présents à de très fortes concentrations, comme la taurine dans le stolon, l'alanine dans le nectosome ou l'arginine dans les bractées longues permet de supposer que leur existence est due à des systèmes enzymatiques capables de fournir rapidement les acides aminés concernés, à des taux élevés. Le problème demeure d'ailleurs de savoir si certains acides aminés ne sont pas directement puisés dans le milieu extérieur. D'autre part, le fait que ces animaux ne possèdent pas d'organe de réserve connu doit les obliger à des synthèses et des dégradations permettant aux métabolites d'être transformés en un temps minimal. L'étude détaillée de ces transformations pourra constituer un chapitre d'étude intéressant à la fois les biochimistes, les biologistes et les écologistes marins, car elle renseignera sur l'évolution biochimique, la phylogénèse et la distribution des représentants de ce groupe zoologique.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN J. A. & GARRETT M. R. (1971) Taurine in marine invertebrates. In *Advances in Marine Biology* (Edited by RUSSELL S. & YONGE M.), pp. 205-253. Academic Press, London.
- AWAPARA J. (1962) Free amino acids in invertebrates: a comparative study in their distribution and metabolism. In *Amino Acid Pools* (Edited by HOLDEN J. T.). Elsevier, Amsterdam.
- CECCALDI H. J. (1962) Sur une méthode de récolte du macroplancton. *Rec. Trav. Stat. mar. Endoume* 26 (Bull. 41), 3-6.

- CECCALDI H. J. & DAUMAS R. (1967) Etude comparative des acides aminés de quelques Siphonophores. *Comp. Biochem. Physiol.* **22**, 487-493.
- DAUMAS R. & CECCALDI H. J. (1965) Contribution à l'étude biochimique d'organismes marins—1. Acides aminés libres et protéiques chez *Beroe ovata* (Eschscholtz), *Ciona intestinalis* (L.), *Cymbulia peroni* (De Blainville) et *Rhizostoma pulmo* (Agassiz). *Rec. Trav. mar. Stat. Endoume* **38** (Bull. 53), 3-14.
- MACKIE G. O. (1964) Analysis of locomotion in a Siphonophore colony. *Proc. R. Soc. Lond. B* **159**, 366-391.
- TOTTON A. K. (1965) *A Synopsis of Siphonophora*. British Museum, London.

Key Word Index—Amino acids; Siphonophora; *Forskalia edwardsi*.