

A Monsieur A.K. Totton, avec les respectueux sentiments des auteurs

Hubert J. Ceccaldi *Raoul Daumas*

Comp. Biochem. Physiol., 1967, Vol. 22, pp. 487 to 493. Pergamon Press. Printed in Great Britain

ETUDE COMPARATIVE DES ACIDES AMINES DE QUELQUES SIPHONOPHORES

HUBERT J. CECCALDI et RAOUL DAUMAS

Division de Biochimie marine, Station marine d'Endoume, 13 Marseille 7ème,
France

(Reçu le 9 février 1967)

Abstract—1. Siphonophores—Physonectes—*Nanomia bijuga* (Delle Chiaje 1841) *Agalma elegans* (Sars 1846) *Halistemma rubrum* (Vogt) 1852), *Forskalia contorta* M. Edw. 1841, *Forskalia edwardsi* Kolliker 1853 and Calycophores *Hippopodius hippopus* Forskal 1776 and *Rosacea cymbiformis* (Della Chiaje 1842) have been studied from the point of view of their free and proteic amino acid composition.

2. The organisms studied were caught by divers, then freeze-dried and analysed by a Beckman Spinco 120 C amino-acid analyser.

3. In the Siphonophores analysed the free amino acid values are extremely high, between 11.1 and 44.7 per cent of total amino acid.

4. The highest values were found in the most primitive organisms and reciprocally the lowest in the most highly evolved organisms.

5. The whole group may be contrasted with the Medusae Acalephae, in which the free amino acids do not exceed 2 per cent. These observations are followed by remarks on the ecology, flotation, physiology and phylogeny of Siphonophores.

INTRODUCTION

BIEN peu d'études physiologiques—et encore moins biochimiques—ont été consacrées aux Siphonophores. La difficulté de la récolte, du maintien en aquarium et de l'expérimentation constituent autant d'obstacles majeurs limitant sérieusement les études de ce groupe d'animaux extrêmement fragiles. Ces études ont un grand intérêt, surtout en ce qui concerne le cycle de la matière organique, vivante ou non, dans le milieu liquide marin (Ceccaldi, 1965; Daumas & Ceccaldi, 1966). Enfin, les résultats des analyses biochimiques peuvent apporter quelques éléments à des considérations d'ordre évolutif, l'origine polyphylétique de ce groupe ayant toujours été un sujet de préoccupation de la part des spécialistes.

METHODES ET TECHNIQUES

1. *Récolte*. Elle est faite en plongée, directement en mer, comme il a été décrit précédemment (Ceccaldi, 1962). Tous les organismes étudiés proviennent de la baie de Villefranche-sur-Mer où ils ont été récoltés en Mars 1965.

2. *Lyophilisation*. Les animaux sont placés à l'état vivant, dans une seringue Struers de 20 ml dont on a ôté le piston. Puis, celui-ci remis en place, les siphonophores sont injectés directement dans les ampoules à lyophiliser. Le peu de consistance des tissus de ces organismes rend cette opération très aisée. Le contenu est ensuite congelé dans un appareil

TABLEAU 1—ACIDES AMINÉS LIBRES (EN POURCENTAGE DES ACIDES AMINÉS TOTAUX)

Acides aminés	<i>Nanomia bijuga</i>	<i>Agalma elegans</i>	<i>Halistemma rubrum</i>	<i>Forskalia contorta</i>	<i>Forskalia edwardsi</i>	<i>Hippopodus hippopus</i>	<i>Rosacea cymbiformis</i>
Lys*	1,7	7,2	1,4	1,2	0,2	1,0	3,0
His	1,0	2,3	0,5	0,4	0,1	0,4	0,8
Ammonia	0,2	0,6	0,8	0,3	0,1	0,2	0,1
Arg	0,2	6,7	1,4	1,3	0,3	1,0	2,4
Asp	0,5	0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3
Thr	1,3	0,9	1,1	1,1	0,5	0,9	0
Sér	2,4	1,2	1,1	2,2	0,8	1,3	0,2
Glu	5,7	2,8	2,3	2,2	3,1	2,3	0,7
Pro	0,5	Traces	2,2	2,3	2,9	2,4	Traces
Gly	2,1	2,4	2,4	1,8	2,0	2,0	1,0
Ala	2,5	1,4	2,9	2,6	0,7	1,7	0,1
Cys	0,4	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2
Val	2,0	1,2	2,1	1,3	0,6	1,5	0,3
Mét	1,3	0,6	8,9	0,9	0,3	0,9	Traces
Ile	2,0	1,2	2,4	1,8	0,5	1,5	0,1
Leu	3,2	1,6	0,3	2,6	0,8	2,3	0,3
Tyr	2,2	1,0	1,0	1,5	1,3	1,1	0,6
Phe	2,2	0,8	1,8	1,5	0,6	1,1	0,3
Taurine	10,4	5,2	2,8	3,7	7,1	1,2	0,7
Asp Glu + NH ₂ NH ₂	3,0	1,9	2,1	2,8	2,3	1,6	0
Total	44,8	39,4	38,0	30,8	25,4	25,0	11,1

ACIDES AMINÉS PROTÉIQUES (EN POURCENTAGE DE ACIDES AMINÉS TOTAUX)

Lys*	5,3	3,1	5,6	3,2	6,6	4,0	7,2
His	1,6	9,2	0,4	0,9	2,4	1,3	1,8
Ammonia	1,2	0,7	0,6	0,6	1,6	3,3	2,4
Arg	3,9	2,4	3,1	1,9	4,2	6,8	5,0
Asp	5,5	15,2	4,6	4,4	6,9	9,5	7,5
Thré	2,4	0,9	2,6	1,3	3,3	3,6	1,8
Sér	2,5	0,6	1,9	1,0	2,9	3,0	1,1
Glu	8,5	6,6	8,8	7,7	15,0	10,0	15,4
Pro	0,3	1,9	4,6	37,8	3,7	4,5	6,0
Gly	3,8	3,9	2,8	3,0	7,2	10,4	7,9
Ala	3,1	2,2	11,3	1,2	5,8	4,7	4,1
Cys	0,7	Traces	0,9	0,6	1,2	0,3	5,1
Val	3,3	4,6	2,8	2,0	3,0	2,0	4,7
Mét	1,7	1,0	0,8	0,4	1,3	0,6	1,9
Ile	2,8	2,0	1,8	0,1	3,3	2,1	3,7
Leu	4,2	2,9	5,5	1,4	4,4	2,6	5,2
Try	2,2	1,6	0	0	Traces	2,5	2,6
Phe	2,2	1,6	3,3	0,8	2,4	2,2	3,3
Taurine	0	0,2	0,6	Traces	Traces	Traces	2,0
Total	55,1	60,4	62,0	68,3	75,2	75,2	88,7

* Vide IUPAC Information Bulletin No. 20 (1963).

rotatif plongeant dans un bain à -78°C . Le temps séparant l'injection de la congélation varie de quelques secondes à moins de 5 min. Les ampoules utilisées, de 50 ml de volume, sont remplies de 20 ml de produit. Le lyophilisateur est de marque Usifroid, type MS 12.

3. *Analyses chimiques.* Elles suivent le même protocole que dans une publication précédente (Daumas & Ceccaldi, 1965). La seule modification à noter est que l'analyseur automatique d'acides aminés est un appareil Beckman type 120 C, équipé de cuves à haute sensibilité.

RESULTATS

Les résultats des analyses ont été regroupés en un tableau double, pour les acides aminés libres, et pour les acides aminés protéiques (voir Tableau 1). Ils sont exprimés, pour chaque acide aminé, en pourcentage par rapport aux acides aminés totaux.

Résultats principaux. Quelques remarques nous paraissent essentielles lorsqu'on examine ce tableau.

1. En premier lieu, la forte teneur en acides aminés *libres*: 44,8 pour cent chez *Nanomia bijuga*; 39,4 pour cent chez *Agalma elegans*; 38,0 pour cent chez *Halistemma rubrum*; 30,8 pour cent chez *Forskalia contorta*; 25,4 pour cent chez *Hippopodus hippopus*; 11,1 pour cent chez *Rosacea cymbiformis*.

2. Les acides aminés basiques à l'état libre présentent de fortes variations; ainsi, ils constituent 2,4 pour cent des acides aminés libres chez *F. edwardsi*; 6,4 pour cent chez *N. bijuga*; 9, 9,4 et 9,6 pour cent respectivement chez *H. rubrum*, *F. contorta* et *H. hippopus*; les taux les plus élevés se rencontrent chez *A. elegans* (41 pour cent des acides aminés libres) et surtout chez *R. cymbiformis* (56 pour cent des acides aminés libres).

3. Les acides aminés *dicarboxyliques* libres et les amides correspondantes se situent à un niveau à peu près constant. Deux valeurs sont à signaler aux deux extrémités de l'échelle, 6,2 pour cent chez *N. bijuga* et 1 pour cent chez *R. cymbiformis*.

4. Les acides aminés *soufrés* montrent de fortes variations (voir la taurine); ils représentent une fraction importante des acides aminés libres.

5. L'examen des acides aminés *protéiques* montre la prédominance des acides aminés dicarboxyliques, qui constituent entre 30 et 40 pour cent de la partie protéique. Il faut mentionner la concentration en proline de *F. contorta*, cet amino acide représentant plus de la moitié des constituants protéiques; ainsi que la richesse en composés soufrés de *R. cymbiformis*.

Validité des résultats. Il ne faudrait peut-être pas rejeter *a priori* certaines actions enzymatiques susceptibles d'accroître secondairement le taux d'acides aminés libres des Siphonophores broyés et qui auraient pu se produire au cours des manipulations préalables à l'analyse. Dans le but d'éviter de telles transformations des précautions ont été prises: les organismes ont été lyophilisés aussitôt après avoir été mis dans les ampoules. De plus, leur maintien au froid et à l'obscurité avant les analyses est un gage de bonne conservation.

DISCUSSION

Les Siphonophores, animaux situés assez bas dans l'échelle zoologique, sont des organismes extrêmement fragiles, quasi transparents. Leurs évolutions *in situ* et leur comportement frappent toujours l'imagination des observateurs, surtout lorsque ceux-ci ont à l'esprit que l'eau de mer dans laquelle baignent les Siphonophores est plus riche en matière sèche que les organismes mêmes. Leur extrême transparence est évidemment en relation avec une faible teneur en protéines; en conséquence, le rôle joué par les acides aminés libres doit être très important dans la plupart des fractions de ce groupe zoologique: digestion, flottabilité, équilibre osmotique et excrétion par exemple. L'équilibre du milieu intérieur doit être maintenu, en même temps que toutes les autres fonctions; et la circulation des acides aminés dissous doit être un des éléments primordiaux de cet équilibre.

Bien que la digestion soit intracellulaire, dans l'endoderme du gastrozoïde, voire du dactylozoïde, on ignore comment se fait le transport des métabolites, et l'on suppose que des cellules digestives se gonflent et abandonnent l'endoderme pour être charriées dans le "liquide entérique", constituant ainsi une véritable sécrétion holocrine (Mackie & Boag, 1963).

Des études ultérieures de la composition de ce liquide, ainsi que de l'équipement enzymatique des gastrozoïdes en protéases, permettront de mieux connaître les modalités du transport des métabolites après digestion.

En ce qui concerne le rôle des acides aminés libres dans les phénomènes de flottabilité, il convient de noter que, suivant le groupe taxonomique auxquels ils appartiennent, les Siphonophores peuvent utiliser plusieurs procédés pour assurer leur maintien à une profondeur déterminée. Ce sont principalement: le rôle du flotteur, l'action natatoire du nectosome et l'ensemble des phénomènes métaboliques assurant l'échange de substances à l'échelle moléculaire entre les liquides contenus dans l'animal, et le milieu extérieur. Il est indubitable que les Siphonophores à gros flotteur, comme les Cystonectes, assurent l'essentiel de leur flottabilité grâce à l'existence de cette poche de gaz. Pour les autres (Physonectes et Calycophores), des hypothèses différentes peuvent être envisagées. En effet, il est permis de penser que certains Siphonophores, notamment les espèces pourvues d'un très petit flotteur—et plus encore les Calycophores—utilisent un autre mode de sustentation hydrodynamique; ce procédé serait basé sur l'échange de molécules organiques ou d'ions minéraux entre le milieu intérieur et l'eau de mer, comme cela a été montré par Denton (1963) chez les Cténaires et d'autres organismes du macroplancton.

L'évaluation de la densité moyenne du nectosome, des bractées, des divers types d'individus, ainsi que du liquide intérieur, complété par l'importance relative du flotteur dans la sustentation des divers groupes de Siphonophores, pourra fournir des données permettant de mieux comprendre les causes de la flottabilité pour chacun des groupes étudiés. Quoi qu'il en soit, l'indépendance des formes les plus évoluées vis à vis du milieu, doit se traduire par des régulations biochimiques permettant aux animaux, suivant leurs déplacements, de s'adapter aux nouvelles masses d'eau dans lesquelles ils sont amenés à évoluer.

Les problèmes de flottabilité sont en liaison étroite avec l'excrétion de produits de déchet. Par exemple, le rejet de la taurine dans le milieu extérieur implique des modifications de la pression osmotique interne, et son rétablissement par des phénomènes de compensation complexes. L'inféodation de certaines espèces de Siphonophores à des masses d'eau de température et de salinité déterminées, mises en évidence par des planctonologues, par exemple Moore (1953), Furnestin (1957), Patrìti (1964), doit être en relation avec les phénomènes d'échanges avec le milieu externe. Ces animaux parviennent à un équilibre hydrostatique à l'intérieur d'une masse d'eau déterminée, les mouvements natatoires des cloches leur assurant leurs déplacements à l'intérieur de cette masse d'eau. Le fonctionnement du nectosome permet à l'animal de gagner les couches d'eau supérieures, puisque le flotteur le maintient en position verticale; ce n'est qu'exceptionnellement que les Siphonophores nagent activement vers le bas, le flotteur demeurant orienté vers la surface (Mackie, 1964). Un Siphonophore comme *Forskalia*, possède un flotteur d'un volume extrêmement faible, comparé à son volume total; de plus, il est dépourvu de pore distal. Le rôle de cette poche de gaz est très peu important dans la flottabilité; il convient de s'interroger sur la signification exacte de l'évolution de cet organe, et en particulier, s'il n'y a pas lieu de la considérer comme un organe équilibrateur plutôt que comme un flotteur, dans certains cas du moins.

Les deux espèces *Forskalia contorta* et *Forskalia edwardsi* ont été différenciées suivant Trégouboff & Rose (1957) en se basant sur la coloration du pneumatophore, des cloches natatoires et des bractées. Totton (1965) les regroupe en une seule espèce *F. edwardsi* Kölliker 1853. Les différences constatées au cours des analyses font penser soit à deux espèces séparées, soit à deux formes très différentes de la même espèce. En attendant les résultats d'études ultérieures, et en nous basant sur la description du traité de Trégouboff & Rose (1957), nous avons choisi de conserver ces deux espèces séparées. On pourrait peut-être également les considérer comme deux états successifs de l'évolution de la même espèce; ou bien comme deux variétés à l'intérieur de l'espèce. Nous ne devons pas rejeter non plus l'existence de variations dans le taux d'acides aminés en fonction de l'âge des animaux, ou leur état physiologique.

Il faut noter le parallélisme qui existe entre le teneur en acides aminés libres des Siphonophores étudiés, et leur place dans l'échelle zoologique: les moins évolués sont les plus riches en acides aminés libres et les plus évolués en sont les plus pauvres. En se référant à la dernière classification de Totton (1965), on peut établir le tableau suivant qui met en évidence le taux d'acides aminés libres et la position systématique.

L'espèce *H. hippopus* fait exception à la règle, comme d'ailleurs elle fait exception dans le Sous-ordre des Calycophorae par son absence de bractées. Ces organes doivent jouer un rôle important dans la flottaison; car généralement, elles flottent à la surface des récipients dans lesquels les animaux sont conservés. Nous n'avons pas pu trouver d'explication convenable pour la ressemblance qui se manifeste entre les résultats des analyses de *H. hippopus* et de *F. contorta*.

Par ailleurs, une comparaison avec des analyses précédentes (Daumas &

Ceccaldi, 1966), montre que chez la Méduse acalèphe *Rhizostoma pulmo*, la teneur en acides aminés libres est beaucoup plus faible. Chez cet animal, ce taux n'excède pas 2 pour cent. Chez *Rhizostoma pulmo*, les analyses précédentes ont mis en évidence une faible teneur en glucosamine, alors que, chez tous les Siphonophores étudiés ici, il n'y a pas trace de sucre aminé. D'autres analyses portant sur des méduses appartenant à d'autres groupes, seraient intéressantes à effectuer pour compléter ces comparaisons.

TABLEAU 2

Classification	Taux d'acides aminés libres (pour cent)
Sous-ordre I: Cystonectes	
Sous-ordre II: Physonectes	
Famille 4: Agalmidae	
<i>Nanomia bijuga</i>	44,8
<i>Agalma elegans</i>	39,0
<i>Halistemma rubrum</i>	39,4
Famille 9: Forskaliidae	
<i>Forskalia contorta</i>	30,8
<i>Forskalia edwardsi</i>	25,4
Sous ordre III: Calycophorae	
Famille 10: Prayidae	
<i>Rosacea cymbiformis</i>	11,1
Famille 11: Hippopodiidae	
<i>Hippopodius hippopus</i>	25,0

L'étude plus détaillée de la composition chimique des acides aminés libres et protéiques, à travers tout le groupe, et en particulier dans les sous-ordres des Cystonectes et des Calycophores, laisse pressentir d'intéressantes perspectives pour l'étude des affinités à l'intérieur des Siphonophores. La généralisation de ces analyses par des études du même ordre sur les Chondrophorides d'une part, et sur les divers groupes de méduses d'autre part, fait prévoir de futures recherches prometteuses dans le groupe des Hydrozoaires.

Remerciements—Nous adressons nos sincères remerciements à MM. A. K. Totton du British Museum (Natural History) Londres, et C. Carré de la Station zoologique de Villefranche-sur-Mer, pour leurs avis et la critique du manuscrit de cet article.

BIBLIOGRAPHIE

- CECCALDI H. J. (1962) Sur une méthode de récolte du macroplancton. *Recl Trav. Stn mar. Endoume* **26**, **41**, 3-6.
- CECCALDI H. J. (1965) Contribution à l'étude de dosages quantitatifs du plancton—I. Introduction. *Recl Trav. Stn mar. Endoume* **35**, **51**, 9-16.

- DAUMAS R. & CECCALDI H. J. (1965) Contribution à l'étude biochimique d'organismes marins. 1. *Recl Trav. Stn. mar. Endoume* **38**, **53**, 3-14.
- DAUMAS R. & CECCALDI H. J. (1966) Acides aminés d'organismes planctoniques *Beroe ovata*, *Cymbulia peroni* et *Rhizostoma pulmo*. *Abstr. Pap. Second Congr. int. Oceanogr.* Nauka, Moscou.
- DENTON E. J. (1963) Les mécanismes de flottaison des organismes marins. *Endeavour* **22**, **85**, 3-8.
- FURNESTIN M. L. (1957) Chaetognathes et zooplancton du secteur atlantique marocain. *Revue Trav. Inst. Pêch. marit.* **21**, 1-356.
- LELOUP E. (1954) A propos de Siphonophores. *Vol. jubil. à Victor Van Straelen*. Vol. **2**, pp. 643-699. Bruxelles.
- MACKIE G. O. (1964) Analysis of locomotion in a Siphonophore colony. *Proc. R. Soc. B*, **159**, 366-391.
- MACKIE G. O. & BOAG D. A. (1963) Fishing feeding and digestion in Siphonophores. *Pubbl. Staz. zool. Napoli* **33**, 178-196.
- MOORE H. B. (1953) Plankton of the Florida current—II. Siphonophora. *Bull mar Sci. Gulf Caribb.* **2**, 559-573.
- PATRITI G. (1964) Les Siphonophores calycophores du Golfe de Marseille. *Recl Trav. Stn mar. Endoume* **35**, **51**, 185-258.
- TOTTON A. K. (1965) *A Synopsis of Siphonophora*. British Museum, London.
- TREGUBOFF A. & ROSE M. (1957) *Manuel de Planctonologie Méditerranéenne*. Centre national de la Recherche Scientifique, Paris.