

ÉTUDE DE QUELQUES SUBSTANCES FLUORESCENTES PRÉSENTES DANS DEUX ÉCHANTILLONS DE PLANCTON MARIN.

par

André Momzikoff (1)

Laboratoire de Physiologie des Êtres marins, Institut océanographique, Paris.

Résumé

Trois substances fluorescentes, l'isoxanthoptérine, la riboflavine et le lumichrome ont été identifiés par leurs spectres d'absorption à différents pH, ainsi que par cochromatographie dans un lot de plancton composé essentiellement de Crustacés Copépodes, prélevé au mois de mai, ainsi qu'au mois de septembre.

Les ptérines ont été découvertes par G. Hopkins en 1889 dans les ailes de papillons. La vaste répartition et l'importance de cette classe de composés n'ont cessé de s'affirmer avec les travaux qui leur ont été consacrés depuis. Elles ont été principalement étudiées chez les Arthropodes et les Vertébrés inférieurs, où elles peuvent être abondantes, en particulier dans les téguments externes, les peaux et les yeux. Certaines d'entr'elles sont considérées comme des pigments, car elles participent avec d'autres substances comme les ommochromes ou les mélanines à la coloration de certains organes et tissus. C'est ainsi que la coloration des ailes de certains Pieridés est due notamment à de la xanthoptérine, de la leucoptérine et de l'érythroptérine (Watt, 1964), avec des quantités plus ou moins importantes de sépiaptérine (Descimon, 1967).

Toutes les ptérines n'ont pas ce caractère pigmentaire : ainsi, par exemple, la bioptérine (Goto, 1958) et la ptérine-6-COOH (Hama, 1953), qui se rencontrent fréquemment chez les Anoures, de même que la 7-OH-bioptérine qui est répandue chez les Cyprinidés (Huttel et Sprengling, 1941) sont bien localisées dans la peau et les écailles, seules ou avec d'autres ptérines, mais ne participent pas à leur pigmentation, qui est due surtout aux mélanines.

Le rôle biologique des ptérines est encore assez peu connu. On sait pourtant qu'elles se trouvent impliquées dans de nombreux processus, comme celui de la vision, de la différenciation sexuelle ou du

(1) Avec la collaboration technique de Monique Portheault et Jean-Marie Legrand.

développement et qu'elles jouent un rôle important dans le métabolisme : une ptérine entre en effet dans la constitution de la molécule d'acide folique et, récemment, Kaufman (1958) et Viscontini (1968) ont montré que les ptérines tétrahydrogénées sont cofacteurs des hydroxylations enzymatiques qui se produisent au cours de la mélanogénèse. En outre, la bioptérine et ses dérivés sont des facteurs de croissance pour le Flagellé *Crithidia fasciculata* (Nathan et coll., 1958). Par ailleurs, C. Dezère (1967) a montré que l'isoxanthoptérine, lorsqu'elle était ajoutée aux milieux d'élevage d'œufs de l'Oursin *Arbacia lixula*, provoquait, à de très faibles concentrations, une modification de la vitesse de croissance des pluteus. Cette même ptérine a été mise en évidence et identifiée par ses spectres d'absorption U.V. dans les eaux de mer naturelles (Momzikoff, 1969). Elle pouvait, de ce fait, être considérée comme une télérgone, c'est-à-dire une substance qui est émise par certains organismes et agit sur d'autres, par l'intermédiaire de l'eau. Il était important de préciser les origines possibles de ce métabolite présent dans l'eau de mer.

Les ptérines, qui ont été surtout étudiées chez les organismes terrestres et d'eau douce, sont également présentes chez la plupart des organismes marins : les Poissons où elles sont souvent associées aux flavines (Fontaine, 1937 ; Fontaine et Busnel, 1936, 1939), les Crustacés benthiques (Busnel et Drilhon, 1948), les Ascidies (Karrer et coll., 1934), les Annélides (Yamao, 1955-1956) etc. Le plancton, par contre, dont certains groupes sont exclusivement marins, n'a pas été étudié de ce point de vue ; il était intéressant de voir dans quelle mesure celui-ci pouvait être à l'origine des composés fluorescents que nous avons trouvés dans l'eau de mer.

MATÉRIEL

Nous avons d'abord étudié un zooplancton riche en Crustacés.

Le plancton a été pêché au large de Monaco, dans une zone située à 1-2 milles de la côte à deux époques de l'année, en mai et en septembre 1967. Les prélèvements ont été faits de façon analogue dans les deux cas. Ils se sont étalés sur une dizaine de jours chacun. Les prélèvements de nuit constituent environ 40 p. 100 du matériel. Des traits horizontaux d'une vingtaine de minutes ont été faits dans les cinq premiers mètres. Nous avons utilisé simultanément deux filets : l'un d'une ouverture de 1 m avec une maille de 158 μ , l'autre de 0,5 m et de 260 μ . Le plancton recueilli a été concentré dans un entonnoir cylindrique sur une gaze fine, puis essoré par un léger vide pour éliminer le maximum d'eau de mer. Ces planctons renfermaient essentiellement des Crustacés ; un triage à bord a été parfois nécessaire pour éliminer les espèces n'appartenant pas à ce groupe (Salpes, Siphonophores, œufs de Poissons, etc.). Le matériel, congelé dans de la carboglace, a été conservé au freezer jusqu'aux analyses. Les opérations ultérieures ont été réalisées à l'abri de la lumière.

Les déterminations des espèces et les comptages ont été faits sur un millier d'individus, conservés dans de l'eau de mer formolée à

5 p. 100. En mai, les Copépodes constituaient 82 p. 100 des individus, en septembre, plus de 90 p. 100. Il s'agit principalement des genres *Acartia*, *Calanus*, *Centropages*, *Oithona*, *Corycaeus*, *Temora*, de quelques Pontellidés (*Anomalocera*), etc.

Les autres Crustacés (environ 10 p. 100, dans les deux cas) sont principalement des Cladocères, des Euphausiacés et des larves de Décapodes benthiques. Les non-Crustacés qui n'avaient pu être éliminés au moment du triage sont quelques Appendiculaires, Chaetognathes et Mollusques.

PRÉLÈVEMENTS DE SEPTEMBRE

Nous avons étudié 4,030 kg de plancton frais essoré. Le matériel a d'abord été broyé dans un Waring-Blendor refroidi par de la glace (10 minutes), puis soumis aux ultrasons (20 minutes). Le broyat a été amené à une teneur en alcool de 70 p. 100 par addition de méthanol. Du thioglycol (0,2 p. 100) a été ajouté pour minimiser l'oxydation des composés réduits. Après une semaine de macération, l'ensemble a été centrifugé. Le surnageant a été concentré sous vide, les culots mélangés à de la poudre de cellulose pour former une pâte qui a été déposée au sommet de 3 courtes colonnes de poudre de cellulose de 14 cm de diamètre et de 4 cm de hauteur. Ces colonnes ont été éluées avec du méthanol à 80 p. 100 jusqu'à épuisement de la fluorescence. Le surnageant et les éluats réunis ont été concentrés et amenés à sec. Ils constituent l'extrait sec.

Dans une expérience préliminaire, nous avons effectué une chromatographie bidimensionnelle de l'extrait brut. Celle-ci a montré la présence de sept corps fluorescents à la lumière U.V. (360 nm). Une tache fluorescente en violet et une tache fluorescente en jaune ont retenu l'attention par leur abondance relative. La première a été identifiée à de l'isoxanthoptérine, la deuxième à de la riboflavine.

Quatre taches fluorescentes en jaune correspondent à des composés qui n'ont pu être identifiés par suite de leur très faible concentration. Deux taches fluorescentes en bleu ne sont apparues que par oxydation à l'air ; par leurs caractères lipidiques elles semblent ne pas être des ptérines. Une tache fluorescente en bleu vert correspond au lumichrome, également peu abondant. De nombreux autres corps sont apparus en cours de séparation. Ils n'ont pu être étudiés par suite de leurs faibles quantités.

Pour les séparations et les isollements des divers composés, nous nous sommes servis de la chromatographie sur colonnes de poudre de cellulose. Cette technique, utilisée par Viscontini et coll. (1957, 1960, etc.) pour l'isolement et l'identification de ptérines et flavines à partir de divers organismes comme les *Drosophiles*, les Fourmis, *Ephestia*, etc. a donné, là aussi, les meilleurs résultats.

Dans une première étape, l'extrait a été fractionné sur une série de colonnes courtes (h : 20 cm) avec, comme solvant, de l'eau additionnée de thioglycol (0,2 p. 100). Nous avons utilisé huit colonnes de

8,3 cm de diamètre, huit de 8,7 cm et huit de 14 cm et distingué trois fractions dans l'éluat :

— la fraction A renferme les sels et des composés colorés en marron ;

— la fraction B renferme les corps fluorescents en bleu précédents ;

— la fraction C comprend la plupart des corps fluorescents dont la riboflavine, l'isoxanthoptérine et le lumichrome.

La fraction C, après concentration, a été chromatographiée sur trois colonnes ($d=5$ cm, $h=30$ cm), avec le système propanol-ammoniaque à 1 p. 100 (2 : 1). Deux zones se distinguent nettement :

— en tête, une zone fluorescente en jaune qui renferme la riboflavine et le lumichrome (fraction CA) ;

— venant ensuite, une zone fluorescente en violet où se trouve l'isoxanthoptérine (fraction CB).

TABLEAU 1

Maximums d'absorption U.V., de l'isoxanthoptérine, de la riboflavine et du lumichrome, isolés dans le plancton du lot de septembre 1967, lus dans HCl N/10, et NaOH N/10, et exprimés en nm.

	Isoxanthoptérine	Riboflavine	Lumichrome
HCl N/10	285 338	269 370 445	257 355
NaOH N/10	255 338	268 352 444	265 340 430

Après élimination du solvant, la fraction CB a été purifiée sur deux colonnes ($d=5$ cm, $h=27$ cm) avec le système butanol-acide acétique-eau (20 : 3 : 7). La fraction riche en isoxanthoptérine a été chromatographiée après concentration sur trois colonnes ($d=3$ cm, $h=20$ cm) avec de l'eau. Au cours de la concentration, l'isoxanthoptérine a précipité sous forme de dépôt coloré en brun. Le précipité a été chromatographié sur deux colonnes ($d=3$ cm, $h=20$ cm), également avec de l'eau. Le précipité cristallin incolore obtenu à la concentration a été alors passé successivement six fois sur des colonnes de 3 cm de diamètre et de 15 cm de hauteur ($d=3$ cm, $H=15$ cm) développées avec de l'eau et de l'alcool jusqu'à ce que les spectres d'absorption U.V. des éluats soient identiques à celui de l'isoxanthoptérine de synthèse à différents pH (tableau 1).

De plus, l'isoxanthoptérine a été identifiée par cochromatographie avec le produit de synthèse (concordance de R_f dans 10 systèmes de solvants). 550 γ d'isoxanthoptérine ont été ainsi isolés (tableau 2).

La fraction CA se sépare en trois autres fractions sur une colonne ($d=2$ cm, $h=25$ cm) avec le système butanol-acide acétique-eau (20 : 3 : 7). Ainsi :

— la fraction CAA renferme le lumichrome,

— la fraction CAB, la riboflavine,

— la fraction CAC, deux composés fluorescents en jaune.

Le lumichrome qui se trouve dans la fraction CAA a été purifié par deux chromatographies successives sur du papier Whatman n° 1, dans le système butanol-acide acétique-eau (4 : 1 : 1). Il été comparé au lumichrome préparé à partir de la riboflavine, d'après Karrer : une solution de riboflavine est exposée à la lumière du jour, le lumichrome formé est extrait par du chloroforme après acidification, il est recristallisé dans l'acétone et l'acide acétique. L'identité des spectres d'absorption des deux produits à différents pH (tableau 1), ainsi que la concordance des Rf dans neuf systèmes de solvants (cochromatographie) permettent de conclure à l'identité des deux produits. 20 γ de lumichrome ont été isolés du plancton.

TABLEAU 2
Rf des quatre substances fluorescentes isolées dans les échantillons de plancton à Crustacés.

SOLVANTS	Isoxanthoptérine	Riboflavine	Lumichrome	Composé X
Eau	0,53	0,55	0,12	—
NH ₄ Cl à 3 p. 100	0,35	0,42	0,10	—
Isopropanol : eau (1 : 1)	0,62	0,50	0,30	0,63
Butanol : acide acétique : eau (20 : 3 : 7) .	0,20	0,32	0,65	0,65
Butanol : pyridine : eau (6 : 4 : 3)	0,75	—	—	—
Pyridine : acide acétique : eau (4 : 3 : 3) . .	0,74	0,75	0,92	0,67
Propanol : pyridine : eau (3 : 1 : 1)	0,16	0,43	0,73	0,18
Propanol : acétate d'NH ₄ à 2 p. 100 (1 : 1)	0,42	0,43	0,74	0,57
Isopropanol : acétate d'NH ₄ ⁺ à 2 p. 100 (1 : 1)	0,41	0,51	0,40	0,61
Propanol : ammoniacque à 1 p. 100 (2 : 1)	0,16	0,36	0,71	—

La riboflavine de la fraction CAB a été purifiée successivement trois fois sur des colonnes (d=2 cm, h=15 cm) développées avec de l'eau, jusqu'à ce que les spectres des éluats soient identiques à celui de la riboflavine de synthèse à trois pH différents (tableau 1). Elle a été également identifiée par cochromatographie avec le produit de synthèse dans neuf systèmes de solvant, ainsi que par son produit de dégradation, après exposition à la lumière : le lumichrome (tableau 2). 850 γ de riboflavine ont été isolés.

D'autres composés fluorescents en jaune, correspondant aux quatre taches jaunes issues de la fraction CAC et contaminants des deux autres fractions (CAA et CAB) ont été caractérisés par leur Rf dans le système butanol/acide acétique/eau (4 : 1 : 1) (tableau 2). Leurs spectres, mesurés dans de l'eau contre les blancs correspondants, montrent un maximum vers 270 nm. L'un des composés se comporte comme l'isoxanthoptérine de synthèse dans dix solvants par cochromatographie, mais s'en distingue dans un solvant par un Rf plus élevé. Il s'agit peut-être d'un composé voisin.

On constate ainsi que :

— la riboflavine est, d'une part, l'un des composés les plus abondants et que, d'autre part, sa concentration est sensiblement la même

PRÉLÈVEMENTS DE MAI

Le lot du mois de mai se compose de 2 kg de plancton frais essoré. Le broyage et les extractions ont été faits de façon analogue à ceux du lot de septembre. Les extraits, après concentration, ont été fractionnés sur dix colonnes de poudre de cellulose ($d = 14$ cm, $h = 15$ cm) avec de l'isopropanol à 50 p. 100. Trois fractions ont pu être distinguées :

- une fraction A qui renferme des impuretés colorées en brun ;
- une fraction B, des corps fluorescents en bleu ;
- une fraction C, de nombreux corps fluorescents dont l'isoxanthoptérine, la riboflavine, le lumichrome et un composé fluorescent en violet en milieu basique, qui n'a pu être identifié (X).

La fraction C, seule étudiée, a été chromatographiée sur une colonne ($d = 5$ cm, $h = 30$ cm) d'abord avec le système propanol-ammoniaque à 1 p. 100 (2 : 1), puis avec un gradient croissant d'eau dans le même système. Cela a permis de séparer le corps non identifié (X) de l'ensemble : isoxanthoptérine, riboflavine, lumichrome.

Les trois premiers composés ont été purifiés par chromatographie sur des feuilles de papier Whatman n° 1, d'abord avec le système butanol - acide acétique - eau (4 : 1 : 1), puis butanol - pyridine - eau (6 : 4 : 3). Là encore, l'isoxanthoptérine, la riboflavine et le lumichrome ont été identifiés par leur spectre d'absorption U.V. à 3 pH différents, ainsi que par cochromatographie dans plusieurs systèmes de solvants, ou par dégradation, dans le cas de la riboflavine (voir prélèvements de septembre).

10 γ d'isoxanthoptérine, 260 γ de riboflavine et 10 γ de lumichrome ont été isolés de cette manière.

DISCUSSION

La comparaison des produits isolés dans les deux lots de plancton permet de constater que la plupart de ces composés y sont présents, mais que les quantités de certains d'entre eux varient d'une façon notable d'un lot à l'autre. Afin de préciser ces variations, un calcul des quantités effectivement présentes dans le plancton a été fait en tenant compte du nombre d'opérations de chromatographie conduisant à l'isolement de chaque composé et du rendement de chacune d'elles ; ce dernier a été chiffré à 80 p. 100 en développant une colonne chargée

avec de l'isoxanthoptérine, avec du propanol-ammoniaque à 1 p. 100 (2 : 1). Les résultats exprimés en γ par gramme de plancton frais et essoré, ont été portés dans le tableau 3.

aux deux époques de l'année où les prélèvements ont été faits. Elle est de l'ordre de 1 γ/g ;

— la concentration du lumichrome est également constante et de 0,02 γ/g . Le lumichrome est un produit de dégradation de la riboflavine ; une faible quantité peut donc résulter d'une dégradation accidentelle, mais l'essentiel est natif, comme le montrent les chromatographies préliminaires de l'extrait brut ;

— enfin, les concentrations de l'isoxanthoptérine dans le plancton sont les plus variables : au mois de septembre, cette substance est 35 fois plus abondante qu'au mois de mai (0,7 γ/g , contre 0,02 γ/g) ; en septembre, sa concentration est sensiblement égale à celle de la riboflavine, par contre, en mai, la baisse de sa teneur semble « compensée » par une forte concentration du composé fluorescent en violet non identifié (X).

TABLEAU 3

Comparaison des concentrations d'isoxanthoptérine de riboflavine et de lumichrome trouvées dans les échantillons de mai et de septembre 1967.

	Mai : 2 Kg (poids humide)			Septembre : 4 Kg (poids humide)			Rapports des concentrations septembre mai
	isolé (γ)	calculé (γ)	concentration γ/g	isolé (γ)	calculé (γ)	concentration γ/g	
Isoxanthopté- rine	10	40	0,02	450	2 700	0,7	35
Riboflavine . .	260	1 040	1,0	850	3 200	0,8	0,8
Lumichrome .	10	40	0,02	20	60	0,02	1,0

Par ailleurs, l'étude des composés fluorescents dans l'eau de mer, menée au cours du mois de mai parallèlement à celle du plancton, aux mêmes endroits, à la même profondeur et aux mêmes moments, avait permis de constater que la concentration de l'isoxanthoptérine (10^{-2} γ/L), était plus forte que celle de la riboflavine ($1,6 \cdot 10^{-3}$ γ/L) et que le composé fluorescent en violet non identifié ne se trouvait pas dans l'eau correspondante. On constate donc que le plancton étudié peut être considéré comme l'une des origines possibles de l'isoxanthoptérine, de la riboflavine et du lumichrome trouvés dans l'eau de mer, mais que les concentrations relatives de ces diverses substances ne sont pas les mêmes dans le plancton et dans l'eau de mer. Cette différence peut être due à des facteurs variés : taux d'excrétion variant selon la saison, vitesses de destruction différentes (par exemple, celle de la riboflavine en lumichrome), présence d'autres types d'organismes planctoniques ou vagiles, etc...

Du point de vue systématique, la présence de l'isoxanthoptérine chez les Crustacés planctoniques doit être rapprochée de celle signalée chez *Astacus fluviatilis* (Viscontini et coll., 1955) ou chez d'autres Crustacés benthiques marins (Busnel et Drillhon, 1948; Zanghi, 1969). Il en est de même pour la riboflavine et les autres corps fluorescents.

CONCLUSION

Parmi de nombreux corps fluorescents, l'isoxanthoptérine, la riboflavine, le lumichrome et un autre composé fluorescent en violet non identifié, ont été isolés dans un plancton à Crustacés composés essentiellement de Copépodes. Les composés identifiés l'ont été par leurs spectres d'absorption U.V. à différents pH ainsi que par cochromatographie. Ce plancton doit être partiellement à l'origine des mêmes composés trouvés dans l'eau de mer au même moment (métabolites externes).

Nous remercions le Commandant J.Y. Cousteau, Directeur du Musée océanographique de Monaco, pour l'accueil qui nous a été réservé sur son navire et dans ses laboratoires, ainsi que les membres de l'équipage de la *Winneretta-Singer*, à bord de laquelle ont été effectués tous les prélèvements, pour leur aimable et compétente collaboration. Nous remercions également l'Agence internationale de l'Energie atomique, ainsi que Monsieur le Professeur Vaissière qui nous ont obligeamment prêté les filets à plancton.

Ce travail a pu être réalisé grâce à l'aide du CNEXO (contrat n° 67-345).

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BUSNEL, R.G. et DRILHON, A., 1948. — Sur les pigments flaviniques et ptériniques des Crustacés. *Bull. Soc. Zool. France*, 53, pp. 141-185.
- DESCIMON, H., 1967. — Identification de la sépiaptérine dans les ailes des Pieridae (Lepidoptera Rhopalocera). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 49, pp. 1164-1166.
- DEZÈRE, C., 1963. — Rôle de l'isoxanthoptérine sur le développement endotrope de l'Oursin *Arbacia lixula*. *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat.*, 39, pp. 588-594.
- FONTAINE, M., 1937. — Sur la teneur en flavine de divers organes de l'Anguille. *C.R. Acad. Sc., Paris*, 204, pp. 1367-1368.
- FONTAINE, M. et BUSNEL, R.G., 1939. — Recherches sur la flavine contenue dans la peau de quelques Poissons. *Bull. Inst. océan., Monaco*, 742, pp. 1-12.
- FONTAINE, M. et BUSNEL, R.G., 1939. — Nouvelles recherches sur la répartition des flavines et de quelques autres pigments fluorescents dans la peau et les yeux des Téléostéens. *Bull. Inst. océan., Monaco*, 782, pp. 1-18.
- GOTO, T. et HAMA, T., 1958. — Über die fluoreszierenden Stoffe aus der Haut eines Frosches *Rana nigromaculata*. Isolierung und Eigenschaften des « Rana-chrom 1 ». *Proc. Japan. Acad.*, 34, pp. 724-729.
- HAMA, T., 1953. — Substances fluorescentes du type ptérinique dans la peau et les yeux de la Grenouille (*Rana nigromaculata*) et leurs transformations photochimiques. *Experientia*, 9, pp. 299-300.
- HUETTEL, R. et SPRENGLING, G., 1943. — Über Ichtyopterin, einen blau fluoreszierenden Stoff aus Fischhaut. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 554, pp. 69-82.
- KARRER, P. et coll., 1934. — Ein neues Bestrahlungsprodukt des Lactoflavins : Lumichrom. *Helv. Chim. Acta*, 17, pp. 1010-1013.
- KARRER, P., MANUNTA, C. et SCHWYZER, C., 1948. — Über ein Vorkommen von Purinen und eines Pterins in einer Ascidienart (*Microcosmus polymorphus*). *Helv. Chim. Acta*, 31, pp. 1214-1218.
- KAUFMAN, S., 1958. — The participation of tetrahydrofolic acid in the enzymic formation of phenulalanine to tyrosine. *Bioch. Biophys. Acta*, 27, pp. 428-429.
- MOMZIKOFF, A., 1969. — Recherches sur les substances fluorescentes de l'eau de mer. Identification de l'isoxanthoptérine, de la riboflavine et du lumichrome. *Cah. Biol. Mar.*, 10, pp. 221-230.
- NATHAN, H.A., HUTNER, S.H. et LEVINE, H.L., 1958. — Assay of pteridin with *Crithidia fasciculata*. *J. of Protozool.*, 5, pp. 134-138.

- SCHMIDT, G.H. et VISCONTINI, M., 1962. — Fluoreszierende Stoffe aus roten Waldameisen der Gattung *Formica* (Ins. Hym.). Isolierung von Riboflavin, 2-Amino-6-hydroxypteridine, Isoxanthoptérine, Biopterine, und einen neuen, als Formicapterin bezeichneten Substanz. *Helv. Chim. Acta*, 45, pp. 1571-1575.
- VISCONTINI, M., SCHMIDT, H. et HADORN, E., 1955. — Fluoreszierende Stoffe aus *Astacus fluviatilis*. *Experientia*, 11, pp. 390-392.
- VISCONTINI, M., HADORN, E. et KARRER, P., 1957. — Fluoreszierende Stoffe aus *Drosophila melanogaster*. Die roten Augenfarbstoffe. *Helv. Chim. Acta*, 40, pp. 579-585.
- VISCONTINI, M., 1968. — Tetrahydroptérine Katalysatoren der Phenylalanin Hydroxylierung. *Fortsch. chem. Forsch., Deutsch.*, 9, 4, pp. 605-638.
- WATT, W.B., 1964. — Pteridine components of wing pigmentation in the butterfly *Colias eurytheme*. *Nature*, 201, pp. 1326-1327.
- ZANGHI, C., 1969. — Substances fluorescentes présentes chez trois espèces de Crustacés Décapodes. *Arch. Zool. exp. gén.* (sous presse).