

MISE EN ÉVIDENCE D'UNE EXCRÉTION DE PTÉRINES PAR UNE POPULATION NATURELLE DE COPÉPODES PLANCTONIQUES MARINS.

par

André Momzikoff

Institut Océanographique de Paris, Laboratoire de Physiologie des Etres Marins (1).

Résumé

Plusieurs ptérines (isoxanthoptérine, isodrosoptérine et érythroptérine) ont été identifiées dans le milieu d'incubation d'un échantillon de plancton marin composé de Copépodes. Le plancton a été responsable de leur émission dans l'eau, mais ces ptérines ne représentent que la 10^{-4} partie de l'azote total excrété.

La nature des produits de l'excrétion azotée des Crustacés marins est moins bien connue chez les espèces planctoniques que benthiques, car l'étude n'en a été abordée que par un nombre d'auteurs assez restreint.

C'est d'abord Harris qui a mis en évidence en 1959 l'existence d'une excrétion de l'ammoniaque par les Copépodes, en décelant cette substance dans le milieu où avait séjourné une population naturelle dominée par *Acartia tonsa* et *A. clausi*, mais la mesure n'en a été faite que plus tard par Corner, Cowey et Marshall (1965), sur des élevages de *Calanus helgolandicus* et *C. finmarchicus*.

L'existence d'une excrétion assez élevée d'acides aminés a été ensuite montrée puis confirmée par Johannes et Webb (1965 et 1967) dans les eaux où avaient été maintenus des lots de plancton de différentes origines. Corner et Newell (1967) ne purent retrouver ces composés dans les milieux d'élevage de *C. helgolandicus*, mais identifièrent de l'urée à côté d'importantes quantités d'ammoniaque.

Jawad enfin, étudiant les produits de l'excrétion azotée d'un Mysidacé (*Neomysis rayii*) et de celle d'un Euphausiacé (*Euphausia pacifica*), a trouvé, pour les deux espèces, de l'ammoniaque en même temps qu'une fraction relativement élevée d'azote aminé (10-25 p. 100), mais il n'a pu identifier l'urée que chez *E. pacifica* (1971).

Ces données obtenues sur quelques espèces semblent indiquer que les formes planctoniques des Crustacés sont essentiellement ammoniotéliques, comme la majorité des espèces benthiques de ce groupe, mais qu'elles peuvent également excréter d'autres composés azotés, en quantités variables suivant les espèces, parmi lesquels l'urée et les acides aminés sont les plus fréquents.

(1) 195, rue Saint-Jacques, Paris-5^e.

La plupart de ces substances une fois libérées dans le milieu extérieur se retrouvent en solution dans l'eau de mer, où leurs concentrations varient suivant l'origine de celle-ci. Aussi, la mise en évidence de la présence des ptérines — substances riches en azote — dans les eaux de mer naturelles et les organismes des Copépodes planctoniques marins (Momzikoff, 1969 a et b), nous a conduit à examiner l'éventualité d'une excrétion active de ces mêmes substances, puis à préciser la part de cette dernière dans celle de l'azote total, chez ce groupe de Crustacés.

Dans l'expérience présente, les concentrations en ptérines et en flavines ont été mesurées dans l'eau de mer avant et après le séjour d'un échantillon de Copépodes dont la composition en espèces et en ces mêmes substances avait été déterminée au préalable, tout au moins pour l'essentiel (Momzikoff, 1973).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'échantillon de plancton utilisé provient d'une zone côtière située à environ 2 milles de Monaco. La pêche a été faite en mai 1970, avec un filet de 160 µ de vide de maille, à 5 m de profondeur, dans une eau dont la température était de 15 °C. Trois traits horizontaux de 5 mn chacun, effectués vers 23 h, ont permis de recueillir suffisamment de matériel, tout en réduisant la durée de la capture par le filet.

Les organismes réunis ont été concentrés et lavés sur une gaze de nylon de 1,5 mm de vide de maille, par deux litres d'eau de mer pris à 5 m et préalablement filtrés sur une membrane de 0,45 µ. Ils ont été introduits ensuite dans un récipient contenant un litre d'eau prise également à 5 m et filtrée et dont la température a été maintenue égale à 15 °C. Après 30 mn d'incubation, les animaux dont la mobilité a été constatée, ont été séparés du milieu expérimental à l'aide de la gaze de nylon. L'eau du milieu et trois autres litres d'eau de mer servant de témoin ont été filtrés séparément sur membrane, puis congelés. Le poids du plancton était de 15,20 g, frais et essoré, et de 2,74 g après dessication à 105 °C pendant 24 heures.

L'eau d'incubation et l'eau témoin ont chacune été concentrées sous vide à 35 °C jusqu'à un faible volume (20 et 60 ml respectivement), puis les sels précipités ont été éliminés par centrifugation. Les surnageants ont alors été introduits dans des colonnes de gel de Sephadex G-10 de 4 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur. L'adsorption partielle des ptérines sur le gel de polydextrane, due à leur caractère légèrement aromatique, provoque une diminution de leurs vitesses de migration par rapport à celle des sels, propriété qui permet de concentrer les ptérines dans les fractions venant après ceux-ci (Dewey et Kidder, 1967). L'eau d'incubation a été fractionnée sur une seule colonne, l'eau témoin sur trois. Chacune d'elles a été développée par de l'eau, puis du formiate d'ammonium à 0,1 p. 100, après passage des sels. Les fractions successives ont été concentrées et chromatographiées sur du papier Whatman n° 1 dans le système propanol-ammoniaque à 1 p. 100. Les ptérines et la flavine décelées par leur fluorescence ont été élues et rechromatographiées dans deux autres systèmes

(tableau 1). Les identifications en ont été faites par cochromatographie avec les substances de référence respectives et l'étude des produits de dégradation (lumichrome pour la riboflavine). Les concentrations des diverses substances ont été mesurées par la comparaison de leurs

TABLEAU 1

Rf des diverses substances fluorescentes identifiées dans l'eau de mer avant et après l'incubation de l'échantillon de plancton.

Substance	Propanol-ammoniaque à 1 p. 100 (2 : 1)	Butanol- acide acétique-eau (4 : 1 : 1)	Eau
Erythroptérine	0,10	0,12	0,70
Isodrosoptérine	0,17	0,17	0,08
Drosoptérine	0,15	0,16	0,05
Néodrosoptérine	0,10	0,06	0,02
Isoxanthoptérine ...	0,31	0,22	0,50
Bioptérine	0,65	0,50	0,70
Riboflavine	0,42	0,45	0,60

TABLEAU 2

Concentrations des ptérines et de la riboflavine dans l'eau de mer naturelle, l'eau d'incubation de l'échantillon de plancton et l'échantillon de plancton lui-même. Les concentrations sont exprimées en γ de ptérines et riboflavine par litre d'eau et par gramme de plancton frais essoré.

Substance	Eau de mer naturelle γ/L	Eau d'incubation γ/L	Plancton γ/g
Erythroptérine	—	0,20	2,18
Isodrosoptérine	—	0,20	0,043
Drosoptérine	—	—	0,021
Néodrosoptérine	—	—	0,021
Isoxanthoptérine ...	0,07	0,20	0,010
Bioptérine	0,05	0,05	—
Riboflavine	0,01	0,01	0,014

intensités de fluorescence avec celles de quantités connues des substances de référence respectives. Compte tenu des faibles quantités de substances en présence, la précision des mesures a été de 15 p. 100. Les concentrations pour les deux types d'eau ont été portées dans le tableau 2, où est mentionnée également la composition en ptérines et

en flavines de l'échantillon de plancton lui-même. La composition en espèces de celui-ci était la suivante : 70 p. 100 des individus sont représentés par les formes adultes de *Paracalanus parvus* et les formes jeunes de *Calanus helgolandicus*, les 30 p. 100 restants, par les adultes d'*Acartia clausi* et les stades copépodites jeunes et âgés de *Centropages typicus*.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

La comparaison des concentrations des substances fluorescentes identifiées dans les deux types d'eau met en évidence une augmentation de leur nombre et un accroissement des concentrations pour la plupart d'entre elles.

On constate ainsi que l'érythroptérine et l'isodrosoptérine, qui étaient absentes dans l'eau de mer, ou se trouvaient à des concentrations inférieures à celles permettant leur détection (de l'ordre de 0,05 γ/L), sont apparues après l'expérience, chacune avec une teneur voisine de 0,2 γ/L .

Les concentrations de la bioptérine et de la riboflavine sont restées inchangées, mais celle de l'isoxyanthoptérine s'est accrue, par contre, de trois fois environ (0,2 contre 0,07 γ/L). La drosoptérine et la néodrosoptérine enfin, présentes dans le plancton à des concentrations proches de celle de l'isodrosoptérine, n'ont pas été décelées dans l'eau d'incubation.

Cette apparition de nouvelles quantités de métabolites dans le milieu expérimental doit avoir pour origine les Copépodes de l'échantillon eux-mêmes, car ils forment la quasi totalité de la biomasse introduite, le lavage préliminaire du plancton et la filtration de l'eau ayant en effet enlevé les autres fractions planctoniques initialement présentes (phyto- et nannoplancton).

La quantité de chaque ptérine apparue dans le milieu n'a cependant pas été proportionnelle à celle présente dans les organismes avant l'expérience. Le taux individuel d'émission, mesuré précisément par le rapport de la quantité libérée dans le volume d'eau à celle contenue dans l'échantillon avant l'expérience, met en évidence l'inégalité de cette excrétion. Les taux sont les suivants : 82 p. 100 pour l'isoxyanthoptérine, 31 p. 100 pour l'isodrosoptérine et 0,6 p. 100 pour l'érythroptérine. On constate ainsi que l'isoxyanthoptérine, dont la concentration dans le plancton était inférieure à celle des deux autres ptérines, est au contraire la substance dont l'émission a été la plus élevée. Ce résultat concorde avec ce que l'on sait de la place occupée par l'isoxyanthoptérine dans le métabolisme des ptérines chez les Arthropodes. Commune et répandue parmi les diverses espèces de ce groupe, elle est considérée comme une forme inactive, rejetée par l'organisme. Chez les Pieridae en particulier, elle est déposée dans les ailes où, avec la xanthoptérine et la leucoptérine, elle est la forme d'une véritable « excrétion interne » de l'azote. En tenant compte de ces dernières données, les résultats de l'expérience présente, et notamment le taux élevé de son excrétion, permettent de considérer l'isoxyanthop-

térine comme l'une des principales formes possibles de l'excrétion des ptérines chez les Copépodes composant l'échantillon étudié. Cette constatation, faite sur un mélange d'espèces, permet en outre d'envisager la possibilité d'une excrétion de ce composé par les autres espèces de Copépodes lorsque celles-ci sont pourvues d'un métabolisme des ptérines. La présence fréquente de cette substance dans les divers lots de plancton qui ont été examinés (communication à paraître) ferait alors de ce groupe de Crustacés l'une des origines possibles de l'isoxanthoptérine présente dans les eaux de mer.

En ce qui concerne les deux autres ptérines, leurs taux d'excrétion plus faibles que celui de l'isoxanthoptérine, comme leur répartition moins large chez les Arthropodes, les feraient considérer comme des formes d'excrétion de ptérines moins générales que l'isoxanthoptérine, mais pouvant exister chez certaines espèces, dans certaines conditions.

On ne peut exclure enfin la possibilité d'un accroissement abnormal de l'excrétion de ces composés, provoqué par la perturbation des mécanismes métaboliques, au moment de la capture puis au cours de l'expérience, par suite des conditions nouvelles dans lesquelles se sont trouvés les Copépodes. On sait, en effet, que la respiration augmente chez les organismes planctoniques fraîchement capturés (Marshall et Orr, 1955) et que la nature même des produits excrétés doit être vraisemblablement modifiée par la concentration des individus placés en expérience. Corner et Newell expliquent, en effet, l'absence des acides aminés qu'ils constatent dans les milieux de leurs élevages de *Calanus* par la densité des individus, plus faible dans leurs expériences (1 individu/ml) que dans celles de Webb et Johannes (4 à 60 individus/ml). En prenant le poids sec moyen de *C. helgolandicus* déterminé par Corner et Newell (125 γ) comme poids sec moyen des Copépodes de l'expérience présente, on trouve que la densité y était de 22 individus/ml. La valeur de cette concentration, intermédiaire entre celles des deux expériences précédentes, ne permet donc pas d'exclure la possibilité d'un effet de celle-ci sur la modification des taux d'émission de ces ptérines, dans la mesure où les Copépodes lui sont sensibles.

Cette expérience met, néanmoins, nettement en évidence l'existence, chez les Copépodes planctoniques, d'une excrétion de ptérines, à côté de celle des autres substances azotées déjà identifiées. La quantité globale des ptérines libérées dans le milieu a été assez faible : 0,6 γ en une demi-heure. Prenant la valeur de 30 p. 100 comme teneur moyenne d'azote par molécule de ptérine, l'excrétion devient 0,2 γ d'azote par demi-heure, soit 0,96 γ en 24 heures. Rapportée au mg de matière sèche, celle-ci est alors de $3,5 \times 10^{-4}$ γ d'azote par jour. Comparée à la quantité totale de l'azote excrété par *C. helgolandicus*, qui est de 4,4 γ/mg de matière sèche/jour dans les expériences de Corner et Newell, la fraction azotée représentée par les ptérines n'est que la $7,8 \times 10^{-5}$ partie de celle-ci. La valeur faible de cette excrétion montre que les ptérines ne représentent pas une fraction importante de l'azote total excrété par les Copépodes de ce plancton et indique que l'origine de leur excrétion doit être recherchée dans les processus métaboliques — non étudiés chez les Copépodes — auxquels les ptérines doivent participer.

Summary

Several pterins (isoxanthopterin, isodrosopterin, erythropterin) have been found among the metabolites released by a plankton sample of marine copepods. These pterins are only the 10-4th part of the total amount of the nitrogen excreted by these animals.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- CORNER, E.D.S., COWEY, C.B. et MARSHALL F.R.S., 1965. — On the nutrition and metabolism of zooplankton. III. Nitrogen excretion by *Calanus*. *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, 45, pp. 429-442.
- CORNER, E.D.S. et NEWELL, B.S., 1967. — On the nutrition and metabolism of zooplankton. IV. The form of nitrogen excreted by *Calanus*. *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, 47, pp. 113-120.
- DEWEY, V.C. et KIDDER, G.W., 1967. — The use of Sephadex for the concentration of pteridins. *J. chromatogr.*, 31 (2), pp. 326-336.
- HARRIS, E., 1959. — The nitrogen cycle in Long Island Sound. *Bull. Bingham Oceanogr. Collection*, 17 (1), pp. 31-65.
- JAWAD, M., 1971. — Body nitrogen and nitrogenous excretion in *Neomysis rayii* Murdroch and *Euphausia pacifica* Hansen. *Limnol. Oceanogr.*, 16 (5), pp. 748-754.
- JOHANNES, R.E. et WEBB, K.L., 1965. — Release of dissolved amino acids by marine zooplankton. *Science*, 150, pp. 76-77.
- MARSHALL, S.M. et ORR, A.P., 1955. — The biology a marine Copepod, *Calanus finmarchicus* (Gunners). Oliver and Boyd.
- MOMZIKOFF, A., 1969 a. — Recherches sur les composés fluorescents de l'eau de mer. Identification de l'isoxanthoptérine, de la riboflavine et du lumichrome. *Cah. Biol. Mar.*, 10, pp. 221-230.
- MOMZIKOFF, A., 1969 b. — Etude de quelques substances fluorescentes présentes dans deux échantillons de plancton marin. *Cah. Biol. Mar.*, 10, pp. 429-437.
- MOMZIKOFF, A. et LEGRAND, J.M., 1972. — Etude de quelques substances fluorescentes présentes dans un lot de plancton marin naturel composé de Copépodes. Identification de l'erythroptérine, de la drosoptérine, de l'isodrosoptérine et de la néodrosoptérine. *Cah. Biol. Mar.*, 14, pp. 249-259.
- WEBB, K.L. et JOHANNES, R.E., 1967. — Studies of the release of dissolved free amino-acids by marine zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 12, pp. 376-382.