

## Influence de la salinité sur la composition corporelle des acides aminés libres dans les oeufs et les premières larves de *Dicentrarchus labrax* (LINNAEUS, 1758) (Pisces, Teleostei, Serranidae)\*

Christakis MARANGOS\*\*, Hiroki YAGI\*\* et Hubert J. CECCALDI\*\*

**Résumé:** Les concentrations des acides aminés libres (AAL) totaux, AAL non-essentiels et AAL essentiels ont été mesurées par chromatographie liquide haute performance (HPLC) chez les larves du poisson *Dicentrarchus labrax* en fonction de la salinité à la température 17°C. La salinité varie de 11‰ à 47‰ suivant des intervalles de 9‰. Les concentrations moyennes d'AAL totaux des larves varient de la valeur minimale à la valeur maximale de 26,53 ± 4,96 µmol/g poids frais pour une salinité de 11‰ de 44,97 ± 0,86 µmol/g poids frais pour une salinité de 47‰.

Les concentrations d'AAL diminuent lorsque la salinité décroît et leur variation est plus prononcée entre 20 et 29‰. La composition d'AAL totaux a été également mesurée dans les oeufs de la même espèce; pour une combinaison de 14°C et 38‰, la concentration d'AAL totaux est de 1,57 µmol/g poids frais. Chez les larves et dans les oeufs, la concentration en AAL non-essentiels est toujours supérieure à celle des AAL essentiels.

### 1. Introduction

Le loup, *Dicentrarchus labrax* est un poisson relativement courant sur les côtes méditerranéennes et atlantiques de la France (FAO, 1973). Depuis quelques années, cette espèce fait l'objet de nombreuses recherches du fait de la rentabilité potentielle de son élevage. Sa biologie a été bien étudiée récemment (BARNABÉ, 1976). De nombreuses études sont faites aussi sur les conditions de son élevage intensif (TESSEYRE, 1979) et l'écologie trophique de ses larves (IIZAWA, 1983). Plus tard, ALLIOT *et al.* (1983) ont étudié l'influence combinée des facteurs salinité et température sur la croissance et la composition corporelle d'alevins de *D. labrax*. Grâce à ses travaux, on se rend compte que la biologie et la physiologie de cette espèce sont très influencées par les facteurs du milieu. Les acides aminés libres (AAL) participent en effet de manière importante aux mécanismes d'osmorégulation des animaux marins et le degré d'

euryhalinité de ces derniers peut être limité par la capacité de la réserve ("pool") d'AAL à répondre aux fluctuations de la salinité. C'est la raison pour laquelle, dans ce travail, nous avons étudié leur rôle dans la régulation osmotique chez les larves de *D. labrax* en évaluant leurs compositions qualitatives et quantitatives en fonction de la salinité.

### 2. Matériel et méthodes

Les larves de *D. labrax* utilisées pour l'analyse des acides aminés libres (AAL) ont été obtenues auprès de l'écloserie de Delta-aquaculture (Martigues-Ponteau) en mars 1985 et transportées dans un sac en plastique rempli à moitié d'eau de mer et gonflé à l'oxygène. Les larves provenaient d'oeufs pondus sans injection hormonale par quelques femelles. Leur éclosion avait eu lieu la nuit précédente.

Pour l'étude de l'influence de la salinité sur la concentration des AAL, les larves sont réparties dans 5 bacs dont la salinité a été progressivement ajustée à différentes valeurs de 11 à 47‰ à des intervalles de 9‰. La plus faible salinité a été atteinte en 3 heures. La température de l'eau a été fixée à 17°C. Les oeufs

\* Manuscrit reçu le 10 août 1985

\*\* Laboratoire de Biochimie et Ecologie des Invertébrés marins, E. P. H. E. Centre d'Océanologie de Marseille, U. A. C. N. R. S. -41, 13007 Marseille, France

Tableau 1. Concentrations (en  $\mu\text{mol/g}$  de poids frais) des acides aminés libres dans les œufs du loup *D. labrax*. A, total des acides aminés libres non-essentiels; B, total des acides aminés libres essentiels; (les chiffres entre parenthèses indiquent la déviation standard).

Acides aminés libres	$\mu\text{mol/g}$	Acides aminés libres	$\mu\text{mol/g}$
Non-essentiels		Essentiels	
ASP	0,03 (0,01)	HIS	0,03 (0,01)
GLU	0,07 (0,01)	ARG	0,07 (0,01)
ASN	0,04 (0,01)	THR	0,06 (0,01)
SER	0,15 (0,02)	TRP	Traces —
GLN	0,06 (0,01)	MET	0,06 (0,01)
MSO	Traces —	VAL	0,11 (0,02)
GLY	0,09 (0,01)	PHE	0,10 (0,02)
TAU	0,04 (0,01)	ILE	0,14 (0,02)
ALA	0,15 (0,02)	LEU	0,53 (0,10)
AABA	0,03 (0,01)	LYS	0,42 (0,03)
ORN	0,25 (0,04)		
TYR	0,05 (0,01)		
A Total	0,95 (0,12)	B Total	1,52 (0,16)
		Total global	2,47 (0,27)

Tableau 2. Concentrations ( $\mu\text{mol/g}$  de poids frais) des acides aminés libres chez les larves de *Dicentrarchus labrax* en fonction de la salinité. (Les chiffres entre parenthèses indiquent la déviation standard).

Acides aminés	Salinité (‰)				
	11	20	29	38	47
ASP	0,53 (0,11)	0,64 (0,03)	0,94 (0,12)	1,03 (0,01)	0,98 (0,01)
GLU	1,94 (0,43)	2,51 (0,05)	2,86 (0,17)	2,74 (0,03)	3,02 (0,07)
ASN	0,38 (0,12)	0,59 (0,02)	0,63 (0,09)	0,79 (0,01)	0,99 (0,02)
SER	1,14 (0,29)	1,22 (0,02)	2,13 (0,26)	2,95 (0,05)	1,83 (0,01)
GLN	1,04 (0,26)	2,04 (0,06)	1,61 (0,10)	1,75 (0,04)	2,54 (0,02)
MSO	0,26 (0,09)	0,30 (0,01)	0,42 (0,03)	0,41 (0,01)	0,53 (0,01)
GLY	1,32 (0,27)	1,61 (0,05)	2,20 (0,24)	2,58 (0,22)	2,61 (0,01)
TAU	5,34 (1,08)	6,15 (0,13)	7,78 (0,57)	7,44 (0,31)	8,34 (0,15)
ALA	0,51 (0,11)	0,52 (0,02)	1,23 (0,05)	1,54 (0,02)	1,31 (0,13)
AABA	0,27 (0,04)	0,30 (0,01)	0,35 (0,03)	0,34 (0,01)	0,37 (0,12)
ORN	0,88 (0,05)	1,13 (0,04)	1,32 (0,03)	1,38 (0,05)	1,52 (0,03)
TYR	2,37 (0,47)	2,56 (0,05)	3,84 (0,12)	3,62 (0,02)	3,54 (0,14)
Total	15,97 (3,33)	19,57 (0,33)	25,32 (1,80)	26,55 (0,76)	27,59 (0,16)
HIS	0,68 (0,20)	0,74 (0,01)	1,00 (0,14)	1,10 (0,01)	0,97 (0,01)
ARG	0,47 (0,10)	0,41 (0,02)	0,65 (0,03)	0,78 (0,01)	0,54 (0,01)
THR	0,53 (0,11)	0,52 (0,02)	0,85 (0,04)	1,04 (0,02)	0,84 (0,02)
TRP	0,60 (0,09)	0,66 (0,12)	0,91 (0,01)	0,92 (0,07)	1,01 (0,23)
MET	0,83 (0,13)	1,08 (0,05)	1,29 (0,04)	1,30 (0,01)	1,49 (0,09)
VAL	1,01 (0,18)	1,06 (0,05)	1,52 (0,05)	1,66 (0,01)	1,55 (0,09)
PHE	1,75 (0,29)	2,20 (0,05)	2,73 (0,08)	2,68 (0,01)	2,98 (0,10)
ILE	0,85 (0,14)	0,91 (0,01)	1,24 (0,01)	1,31 (0,01)	1,29 (0,01)
LEU	1,82 (0,23)	2,17 (0,06)	2,49 (0,13)	2,43 (0,02)	3,22 (0,20)
LYS	2,01 (0,06)	2,40 (0,05)	2,34 (0,13)	2,08 (0,15)	3,50 (0,03)
Total	10,56 (1,57)	12,16 (0,12)	15,01 (0,40)	15,30 (0,17)	17,38 (0,71)
Total global	26,53 (3,96)	31,73 (0,11)	40,33 (2,20)	41,85 (0,93)	44,97 (0,86)

ont été incubés dans des tubes de 200 ml contenant 150 ml de l'eau de mer filtrée à 0,45 $\mu$  aux salinités de l'expérience. La durée d'incubation était de 3 jours afin de permettre aux larves de s'adapter aux différentes salinités. Cela permettait aussi d'éviter tout cannibalisme par ouverture de la bouche, qui se produit 4 à 5 jours après l'éclosion de l'œuf. Au bout de 3 jours les larves ont été prélevées et une fois leurs poids frais mesurés, elles ont été gardées au congélateur, avant que leurs AAL ne soient analysés. Pour chacune des salinités, 2 échantillons ont été préparés.

Pour mesurer la concentration d'AAL, nous avons utilisé la méthode de SCHARFF et WOOL (1964) qui consiste à précipiter les protéines par l'acide sulfosalicylique et à récupérer les AAL du surnageant. Les échantillons frais, larves ou œufs, ont été broyés à 0°C avec 4 ml de tampon phosphate 0,01 M (pH 7,0) et 1 ml d'acide sulfosalicylique à 3%. Après centrifugation à 6000 g pendant 30 min, le surnageant a été recueilli. Pour l'analyse en chromatographie liquide haute performance (HPLC), le surnageant peut être utilisé directement. L'étalon externe était de 50 pmol/ $\mu$ l.

La technique de HPLC est basée sur les travaux de Lindroth et MOPPER (1979) et JONES *et al.* (1981).

### 3. Résultats

Dans cette expérience, nous avons identifié 22 AAL dont 12 non-essentiels qui sont: acide aspartique (ASP), acide glutamique (GLU), asparagine (ASN), sérine (SER), glutamine (GLN), méthionine sulfoxyde (MSO), glycine (GLY), taurine (TAU), alanine (ALA), acide  $\alpha$ -aminobutyrique (AABA), ornithine (ORN) et tyrosine (TYR) et 10 AAL essentiels qui sont: histidine (HIS), arginine (ARG), thréonine (THR), tryptophane (TRP), méthionine (MET), valine (VAL), phénylalanine (PHE), isoleucine (ILE), leucine (LEU) et lysine (LYS).

La concentration de chaque acide aminé ( $\mu$ mol/g, poids frais) dans l'œuf de *D. labrax* est donnée dans le Tableau 1. Ces résultats nous montrent que le total des concentrations d'AAL essentiels des œufs est d'environ 2 fois plus grand que celui d'AAL non-essentiels. La concentration moyenne d'AAL non-essentiels est de

0,90 $\pm$ 0,11  $\mu$ mol/g et celle d'AAL essentiels est de 1,57 $\pm$ 0,17. La concentration moyenne d'AAL totaux dans l'œuf est de 2,47 $\pm$ 0,27  $\mu$ mol/g en poids frais. Parmi AAL non-essen-

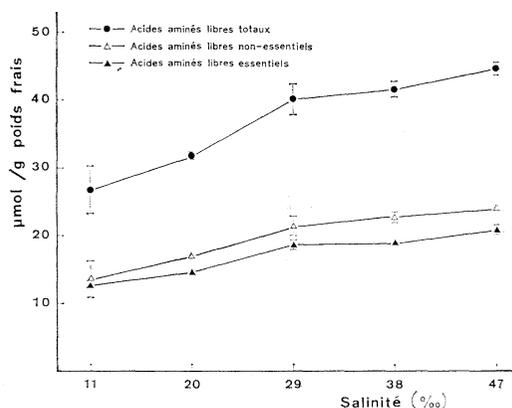


Fig. 1. Concentrations ( $\mu$ mol/g de poids frais) des acides aminés libres totaux (—●—), non-essentiels (—△—) et essentiels (—▲—) chez les larves du loup *D. labrax* en fonction de la salinité.

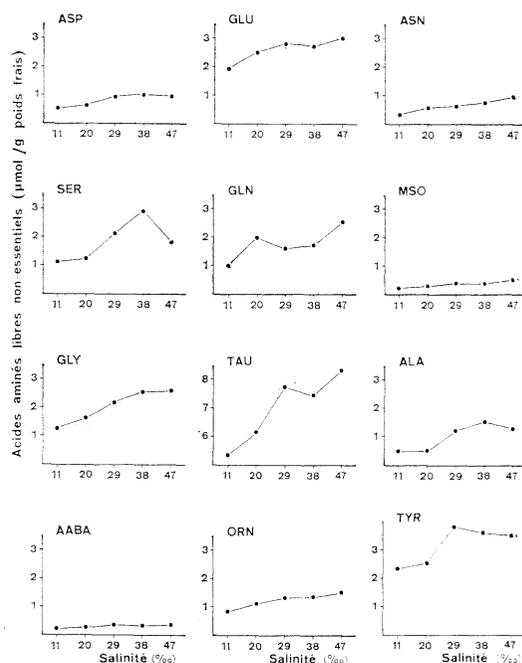


Fig. 2. Concentration de chaque acide aminé libre non-essentiel ( $\mu$ mol/g de poids frais) chez les larves du loup *D. labrax* en fonction de la salinité.

tiels, les plus fortes concentrations sont observées pour SER, ALA et ORN, et parmi AAL essentiels, ce sont VAL, ILE, LEU et LYS.

Les concentrations moyennes de chaque AAL pour les larves de *D. labrax* à 5 salinités différentes, sont données dans le Tableau 2. Pour une salinité de 11‰, la concentration des AAL totaux est de  $26,58 \pm 3,96 \mu\text{mol/g}$ , poids frais,  $31,73 \pm 0,11$  pour une salinité de 20‰,  $40,33 \pm 2,20$  pour une salinité de 29‰,  $41,85 \pm 0,93$  pour une salinité de 38‰ et  $44,97 \pm 0,86$  pour une salinité de 47‰.

Ces résultats nous montrent également que la concentration totale d'AAL non-essentiels est supérieure à celle des AAL essentiels, et cela pour toutes les salinités.

La Figure 1 illustre la variation des concentrations moyennes d'AAL totaux, AAL non-essentiels et AAL essentiels en fonction de la salinité. Sur cette figure, nous pouvons observer une diminution des AAL quand la salinité décroît et que les variations d'AAL totaux, AAL non-essentiels et AAL essentiels sont plus prononcées

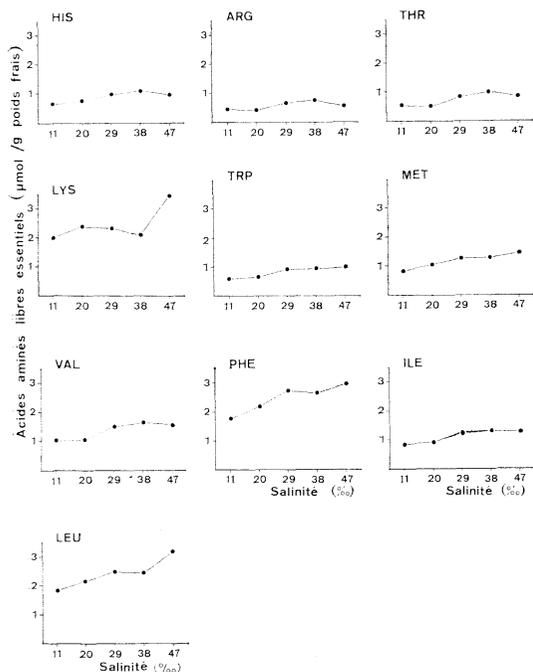


Fig. 3. Concentration de chaque acide aminé libre essentiel ( $\mu\text{mol/g}$  de poids frais) chez les larves du loup *D. labrax* en fonction de la salinité.

entre 20‰ et 29‰.

Les concentrations de chaque acide aminé données dans le Tableau 2 sont représentées sur la Figure 2 pour les AAL non-essentiels et sur la Figure 3 pour les AAL essentiels. Ces figures montrent que tous les AAL ne subissent pas les mêmes variations en fonction de la salinité, certains varient plus que d'autres, mais la tendance générale est orientée vers une diminution des AAL lorsque la salinité diminue. L'AAL dont la concentration est la plus forte est la TAU quelle que soit la salinité. Les AAL non-essentiels qui présentent les plus fortes variations

Tableau 3. Compositions en acides aminés libres des œufs et des larves de *Dicentrarchus labrax* ( $\mu\text{mol}$  pour 100  $\mu\text{mol}$  d'acides aminés libres totaux). A, œufs à 14°C et 38‰; B, larves à 17°C et 11‰; C, larves à 17°C et 20‰; D, larves à 17°C et 29‰; E, larves à 17°C et 38‰; F, larves à 17°C et 14‰.

Acides aminés	œufs		Larves			
	A	B	C	D	E	F
<b>Non-essentiels</b>						
ASP	1,29	1,98	2,01	2,34	2,45	2,18
GLU	2,79	7,32	7,92	7,08	6,54	6,72
ASN	1,62	1,42	1,87	1,57	1,86	2,21
SER	5,87	4,28	3,85	5,29	7,05	4,07
GLN	2,22	3,92	6,44	3,99	4,17	5,65
MSO	traces	0,99	0,95	1,05	0,98	1,18
GLY	3,48	4,97	5,08	5,45	6,17	5,79
TAU	1,70	20,14	17,37	17,29	17,78	18,54
ALA	5,95	1,92	1,62	3,04	3,69	2,91
AABA	1,21	0,99	0,93	0,86	0,80	0,81
ORN	10,20	3,31	3,55	3,28	3,29	3,38
TYR	2,14	8,93	8,07	9,51	8,64	7,86
Total	38,47	60,17	59,66	60,75	63,42	61,30
<b>Essentiels</b>						
HIS	1,13	2,57	2,33	2,47	2,64	2,16
ARG	2,79	1,79	1,30	1,62	1,87	1,20
THR	2,35	1,98	1,63	2,10	2,47	1,87
TRP	Traces	2,27	2,09	2,25	2,19	2,25
MET	2,47	3,14	3,42	3,20	3,09	3,30
VAL	4,61	3,79	3,35	3,76	3,97	3,44
PHE	4,09	6,61	6,92	6,76	6,41	6,62
ILE	5,75	3,21	2,87	3,08	3,13	2,87
LEU	21,25	6,84	6,83	6,18	5,81	7,15
LYS	16,92	7,57	7,56	5,79	4,96	7,78
Total	61,53	39,83	40,34	39,25	36,58	38,70

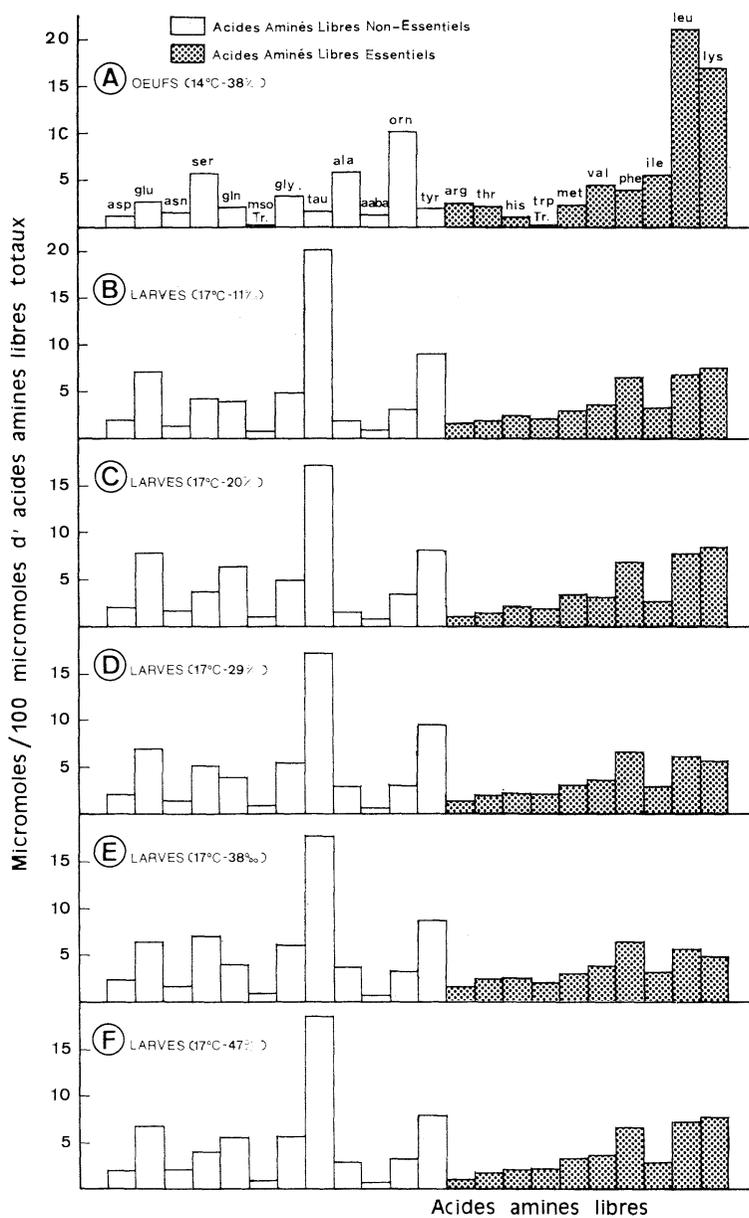


Fig. 4. Compositions en acides aminés libres non-essentiels et essentiels des larves et des œufs du loup *D. labrax*.

sont SER, GLN, TAU, ALA et TYR. Parmi les AAL essentiels les plus fortes variations sont observées pour LEU et LYS.

Pour mettre en évidence la représentativité de chaque AAL par rapport au total des AAL, nous avons présenté dans le Tableau 3 et la Figure 4, les résultats des Tableaux 1 et 2 en

$\mu\text{mol}/100$  d'AAL totaux. Cette représentation nous montre que certains AAL, malgré leur diminution avec la dessalure, peuvent être proportionnellement plus importants dans les faibles que dans les fortes salinités.

La Figure 4 nous permet aussi de mieux appréhender l'évolution des AAL à partir de l'œuf

jusqu'aux larves élevées à différentes salinités. D'après cette figure, nous pouvons observer que les plus fortes variations concernent les acides aminés suivants: TAU, GLU, GLN, ALA, TYR, LEU et LYS.

#### 4. Discussion

Au cours de cette expérience, nous avons observé que la salinité a une influence importante sur les concentrations des AAL chez les larves de *D. labrax* lors de l'éclosion. D'après ces résultats, nous observons que la concentration en AAL diminue de façon importante avec la salinité. La régulation osmotique, par le jeu de la composante amino-acide, semble se faire de façon plus importante entre 20‰ et 29‰. La salinité voisine de 29‰ peut être considérée comme un seuil critique pour cette espèce. Ces résultats concordent avec ceux obtenus chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri* (KAUSHIK, 1977) et sur *Penaeus kerathurus* (RICHARD, 1974, 1982).

La teneur en TAU modifie considérablement la somme des AAL. Malgré de nombreuses observations sur les modifications de la teneur de cet AAL chez les poissons, les invertébrés ou d'autres animaux, la fonction exacte de ce composé sulfurique chez les poissons est encore mal connue. Les formes marines en ont une teneur beaucoup plus élevée que les formes d'eau douce (SIMPSON *et al.*, 1959) ce qui permet de supposer son importance dans l'osmo-régulation.

Contrairement à l'œuf embryonné, les larves de *D. labrax* sont très sensibles aux agressions mécaniques et physicochimiques (BARNABÉ, 1976). Cela peut expliquer le fait que dans l'œuf les AAL essentiels sont presque deux fois plus importants que les AAL non-essentiels et chez les larves, les concentrations d'AAL non-essentiels sont plus importantes que celles des AAL essentiels.

#### Bibliographie

- ALLIOT, E., A. PASTOUREAUD et H. THEBAULT (1983): Influence de la température et de la salinité sur la croissance et la composition corporelle d'alevins de *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, **31**, 181-194.
- BARNABÉ, G. (1976): Contribution à la connaissance de la biologie du loup *Dicentrarchus labrax* (poisson serranidé) de la région de Sète. Thèse de Doctorat, Univ. des Sci. et Tech. du Languedoc, Montpellier, 426pp.
- FAO (1973): Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Vol. 1. Méditerranée et Mer noire.
- JONES, B. N., S. PÄÄBO et S. STEIN (1981): Amino acid analysis and enzymatic sequence determination of peptide by an improved phthalaldehyde precolumn labeling procedure. *J. Liquid Chromatogr.*, **4**, 565-586.
- IZAWA, M. (1983): Ecologie trophique des larves du loup *Dicentrarchus labrax* (L) en élevage. Thèse. 3ème cycle, Univ. des Sci. et Tech. du Languedoc, Montpellier, 140pp.
- KAUSHIK, S. J. (1977): Influence de la salinité sur le métabolisme azoté et le besoin en arginine chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii*). Thèse Doctorat es Sciences, Univ. de Bretagne Occidentale, 227pp.
- LINDEROTH, P. et K. MOPPER (1979): High performance liquid chromatographic determination of subpicomole of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with *o*-phthalaldehyde. *Anal. Chem.*, **51**, 1667-1674.
- RICHARD, P. (1974): Contribution à l'étude du développement larvaire de l'organogenèse chez *Palaemon serratus* et du métabolisme des acides aminés libres chez cette espèce et *Penaeus kerathurus*. Thèse 3ème cycle, Univ. Aix-Marseille, II, 139pp.
- RICHARD, P. (1982): Rôle biologique et écologique des acides aminés libres chez quelques crustacés décapodes marins. Thèse Doct. es Sci., Univ. Aix-Marseille, II, 192pp.
- SCHARFF, R. et I. G. WOOL (1964): Concentration of amino acids in rat muscle and plasma. *Nature*, London, **202**, 603-604.
- SIMPSON, J. W., K. ALLEN et J. AWAPARA (1959): Free amino acids in some aquatic invertebrates. *Biol. Bull.*, **117**, 371-381.
- TESSEYRE, C. (1979): Etude des conditions d'élevage intensif du loup (*Dicentrarchus labrax*). Thèse 3ème cycle, Univ. des Sci. et Tech. du Languedoc, Montpellier, 140pp.

ヨーロッパ産スズキ科魚類 *Dicentrarchus labrax* (LINNAEUS, 1758) の卵及び孵化直後の幼生体内における遊離アミノ酸含有量に及ぼす塩分の影響

クリスタキス・マランゴス, 八木宏樹, ユベール・J・セカルディ

**要旨:** ヨーロッパ産スズキ *Dicentrarchus labrax* の卵を異なる塩分条件で孵化させた場合の幼生体内における 22 種の遊離アミノ酸含有量および含有割合の変化を, 高速液体クロマトグラフ (器具として) HPLC を用いて測定した。実験は水温 17°C において, 塩分を 11‰ から 47‰ の範囲で 9‰ 間隔で変化させて行なわれた。その結果, 孵化直後の同種幼生の体内に含有される遊離アミノ酸量は, 塩分 11‰ で孵化させた場合に最低値, 体重 1 g あたり  $26.53 \pm 3.96 \mu\text{mol}$  を, 塩分 47‰ で孵化させた場合に最高値, 体重 1 g あたり  $44.67 \pm 0.86 \mu\text{mol}$  を示し, 塩分の減少とともにアミノ酸含有量 (必須アミノ酸および可欠アミノ酸共) が減少する事実が観察された。

幼生におけるアミノ酸含有量と比較するために, 同種の発眼卵についてもアミノ酸含有量が 14°C - 38‰ の条件下で測定され, アミノ酸総量は 1 g あたり  $1.57 \mu\text{mol}$  であった。測定された必須アミノ酸 10 種と可欠アミノ酸 12 種の各アミノ酸について, 塩分と体内含有量の関係が論議された。