

Laboratoire de Biologie marine de Concarneau (Finistère)

M. Jean ROCHE, membre de l'Institut (Académie des Sciences),
professeur honoraire, directeur délégué

L'activité du laboratoire s'est poursuivie dans les domaines de la Biochimie et de l'Océanographie biologique.

RECHERCHE

I. *Substances naturelles d'origine marine*

Deux nouvelles bases guanidiques ont été isolées : la phascoline, de *Phascolion strombi* récolté dans la baie de Concarneau, et la phascolosomine, de *Phascolosoma vulgare* et *P. elongatum* provenant de Terenez (Morbihan). Leur structure a été établie à partir de celle de leurs produits d'hydrolyse. Les deux corps résultent de la condensation en liaison amide d'un ω -guanidino-acide et d'un amino-alcool ou d'un amino-éther : acide 3-guanidinopropionique et 2-hydroxy-*n*-heptylamine dans le cas de la phascoline, acide 3-guanidinoisobutyrique et 2-méthoxy-*n*-heptylamine dans celui de la phascolosomine. Les deux corps sont lévogyres. Par leur moitié guanidique, ils pourraient se rattacher au métabolisme des pyrimidines, par leur moitié aminée à celui des aminolipides. L'étude du métabolisme de ces nouveaux corps est en cours (Y. ROBIN et Y. GUILLOU).

II. *Différenciation cellulaire et cycles biologiques*

L'équipe dirigée par M. Y. LE GAL, sous-directeur du laboratoire, a poursuivi ses recherches sur plusieurs aspects complémentaires de la différenciation cellulaire chez l'Algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* et chez la Crevette *Palaemon serratus*.

Chez *Chlamydomonas reinhardtii*, le travail a eu pour base l'étude du cycle cellulaire végétatif et, plus particulièrement, l'étude de l'équipement en DNAses des cellules (D. RODRIGUEZ et R. RAVA).

La purification des activités désoxyribonucléasiques chez *Chlamydomonas reinhardtii* a permis d'isoler trois activités nucléasiques différentes classées I, II et III. La DNase III se présente sous forme d'un complexe protéine-DNA. Ces recherches ont été poursuivies par une étude de l'activité catalytique de la DNase I. Cette DNase est active préférentiellement sur le DNA dénaturé (DNA de thymus, d'*E. coli*, de *Chlamydomonas reinhardtii*). En ce qui concerne les deux premiers DNA, le rapport des valeurs d'activités spécifiques entre le DNA dénaturé et le DNA natif est d'environ 15 à 1. Cependant, dans le cas du DNA de *Chlamydomonas reinhardtii* la différence est beaucoup plus faible (2 à 1). Le WRNA est relativement peu attaqué.

Cette activité est endonucléolytique et s'exerce simultanément sur les deux brins de la molécule de DNA.

Les modifications des activités nucléasiques au cours du cycle cellulaire ont été examinées. L'estimation de l'activité DNase des extraits bruts a été suivie sur des cultures synchronisées au moyen d'une alternance de lumière et d'obscurité. Les variations observées dans ces conditions se révèlent peu significatives du fait de l'interférence de plusieurs activités enzymatiques distinctes. Nous avons donc abordé cette question à l'aide de la chromatographie sur DEAE-cellulose.

Nos premiers résultats indiquent la présence parmi l'éluat 0,15 MNaCl de six bandes protéiques. Deux d'entre elles apparaissent vers 2 h 30 du cycle cellulaire et présentent un maximum vers 6 h, c'est-à-dire au moment de la replication de l'ADN.

La présence d'acide nalidixique à la concentration de 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dès le début du cycle cellulaire provoque une disparition progressive de ces mêmes protéines. L'étude de ces protéines se poursuit en vue de leur identification (polymérase, nucléase ou effecteur). Cette méthode ne permet cependant pas une analyse qualitative et quantitative précise.

Cette étude a donc été poursuivie au niveau des protéines acides obtenues après purification des noyaux et isolement de la chromatine. Cette technique étant limitée par l'extrême difficulté du broyage des cellules, nous avons mis au point une méthode d'extraction des noyaux et chloroplastes de *Chlamydomonas reinhardtii*, en utilisant un mutant sans paroi (CW 15). Les méthodes de lyse des cellules employées permettent ainsi d'obtenir des noyaux de bonne qualité.

Les protéines acides sont ensuite séparées des histones et du DNA par chromatographie sur hydroxyapatite en urée 5 M. Actuellement l'attention se porte essentiellement sur l'obtention de protéines de la chromatine ayant une activité DNase.

Le matériel génétique de *Chlamydomonas* a été étudié en collaboration avec P. CATTO, G. ROBREAU et G. JENSEN. Ce travail porte sur : 1) l'étude de l'action sur la replication des ADN de *Chlamydomonas* d'inhibiteurs spécifiques des ADN circulaires (acide nalidixique, en particulier) ; 2) l'étude de la replication de l'ADN effectuée par des noyaux et des chloroplastes isolés.

Des mesures ont été faites de l'état des pools de nucléotides dérivés soit de la thymine et de la thymidine, soit de l'uracile pour des noyaux et des chloroplastes isolés. Il apparaît que noyau et chloroplaste fonctionnent à cet égard d'une manière autonome. Il existe donc une diploïdie de fait de certains gènes, empêchant ainsi la sélection directe de mutants thymine négatifs de *Chlamydomonas*.

Un certain nombre de mutants résistant à l'acide nalidixique (spontanés ou induits par la MNNG) ont été isolés. Ces mutants se répartissent en trois classes : 1) ceux résistant à 100 μg d'acide nalidixique ; 2) ceux résistant à 700 μg d'acide nalidixique ; 3) ceux résistant à 700 μg d'acide nalidixique et au phénytylalcool.

L'étude de la croissance et de l'incorporation des pyrimidines dans les DNA nucléaires et chloroplastiques est en cours.

Chez *Palaemon serratus* (A. VAN WORMHOUDT et D. RODRIGUEZ), des recherches ont été entreprises en collaboration avec la Station marine d'Endoume (M. CECCALDI, E.P.H.E.) sur la physiologie et la biochimie des Crustacés Natantia. Ces études ont porté sur la physiologie de la digestion chez ces Crustacés, en relation avec les modifications des facteurs écologiques et les caractéristiques propres de l'espèce considérée.

L'essentiel des recherches a été axé sur l'étude des rythmes d'expression des enzymes digestives aux différentes étapes de la croissance. Les résultats obtenus montrent que dans des conditions physiologiques normales les activités enzymatiques digestives de *Palaemon serratus* et *Penaeus kerathurus* subissent des variations cycliques au cours de la journée (rythme circadien) et au cours du cycle d'intermue.

Ces variations sont contrôlées par deux hormones antagonistes contenues dans les pédoncules oculaires. La sécrétion de ces hormones est liée aux variations des facteurs externes, en particulier la température et la lumière.

L'étude du contrôle de la sécrétion des enzymes digestives se poursuit actuellement, surtout en ce qui concerne les variations de la photopériode. Celles-ci interviennent d'une part sur le niveau moyen de la sécrétion et, d'autre part, sur l'activité rythmique. L'injection d'extraits de pédoncules oculaires permet de confirmer l'existence d'une hormone stimulatrice. Cette dernière accroît l'incorporation de leucine marquée au niveau des protéines de l'hépatopancréas.

L'isolement et la caractérisation de cette hormone se poursuivent activement.

Parallèlement, la dissociation de la chromatine par hydroxyapatite devrait permettre une étude approfondie du mode d'action de ces hormones.

Nous avons pu séparer une fraction riche en histones, dont la composition semble différer de celle des histones classiques (ces résultats confirment ceux que nous avons obtenus par l'emploi des différentes méthodes de Johns).

Les variations d'acétylation et de phosphorylation seront étudiées en collaboration avec des chercheurs de Strasbourg. D'autre part, le pic de protéines acides présente, dans certaines conditions, une forte activité DNAsique qu'il serait intéressant de comparer à la DNase digestive purifiée par ailleurs (D. RODRIGUEZ).

Nous recherchons également l'activité RNA polymérase. En ce qui concerne les activités DNases, celles-ci ont fait l'objet d'une étude plus approfondie (D. RODRIGUEZ). L'endonucléase extraite de l'hépatopancréas de *Palaemon serratus* présente des caractéristiques de stabilité supérieures à celles de *Chlamydomonas reinhardtii*. Elle a été purifiée par fractionnement au sulfate d'ammonium, suivi d'un gel filtration sur Sephadex G 100 et d'une chromatographie sur DEAE-cellulose (rapport de purification 150-200). Les conditions optimales d'activité ont été définies : pH optimum de 8 avec Ca^{2+} (2.10^{-3} M) ou Mg^{2+} comme ions activateurs. Température optimale 37° C. Spécificité : le DNA natif est attaqué préférentiellement au DNA dénaturé. Le RNA n'est pas attaqué. Une série de gel filtrations et de centrifugations en gradient de saccharose (milieux neutres et alcalins) ont permis de déterminer que l'enzyme est une endonucléase provoquant préférentiellement des doubles coupures simultanées sur les deux chaînes de DNA.

L'analyse des produits de la réaction a permis de déterminer que la taille moyenne des fragments est de 5-7 nucléotides.

L'enzyme exerce une action relativement spécifique en hydrolysant les liaisons en 5' proches des guanines ou des thymines. La liaison en 3' adjacente ne comporte jamais de base pyrimidique.

III. *Ichtyologie. Dynamique des populations*

Les recherches entreprises ont porté sur la biologie d'espèces intéressant la pêche hauturière concarnoise, en particulier les Sélaciens benthiques et, plus spécialement, les Raies dont les quantités débarquées à Concarneau atteignent 3.000 à 5.000 tonnes par an, soit 8 à 9 % de la production des chalutiers. La population des Raies de la zone Ouest Irlande a fait l'objet d'une analyse détaillée à bord d'un chalutier : composition spécifique, répartition des tailles, sex ratio (*Atlas*, juillet 1972).

L'étude de la croissance a été entreprise sur deux espèces : *R. batis* et *R. naevus*. La détermination de l'âge se faisant par lecture des anneaux de calcification inscrits dans les corps vertébraux, deux techniques sont utilisées : coloration par l'alizarine, examen de coupes obtenues par usure (M.H. DU BUR).

L'étude de la dynamique de population de *Lophius piscatorius* a porté : 1) sur la recherche d'abaques d'égal rendement pour les apports de la pêche hauturière concarnoise ; 2) sur les problèmes statistiques posés par l'échantillonnage stratifié ; 3) sur la différenciation de populations (aspects immunologique et biochimique) (C. BEAUPOIL).

L'étude de l'anatomie macroscopique et radiographique normale du rachis des poissons a été poursuivie ainsi que celle sur les scolioses : électrophorèses d'alevins normaux et anormaux (a. broyages totaux ; b. animaux sans poches vitellines ; c. poches vitellines isolées) et de sérums de sujets adultes normaux et anormaux. Le rapport préliminaire de ce travail sera présenté au Congrès international de Rhumatologie (Kyoto, septembre 1973).

IV. *Equipe de recherche Benthos Nord-Gascogne*

L'ensemble des recherches en ce domaine est effectué en collaboration avec le département d'Océanographie biologique de la Faculté des Sciences de Brest (Prof. GLÉMAREC). Il porte :

1) Sur le substrat dur : quelques résultats préliminaires ont pu être tirés des expériences de colonisation de plaques d'ardoises aux Glénan. L'observation mois par mois de la fixation des espèces permet de dégager : a) une fluctuation de la densité des fixations, mise en relation avec la courbe thermique de l'eau, passant par un minimum pendant les mois froids (janvier, février, mars) et un maximum au cours des mois chauds (juillet, août, septembre) ; b) la notion de succession ainsi que l'ordre d'arrivée des espèces ; c) l'aspect cyclique de cette succession, qui se reproduit d'une année sur l'autre, avec de petites différences quantitatives ; d) les fixations mensuelles en station exposée, qui sont comparables dans leurs grandes lignes à celles

des stations abritées (apparition des mêmes grands groupes), les différences se faisant par des remplacements d'espèces à l'intérieur du groupe, ou remplacement de petits groupes par d'autres. Les autres expériences sont en cours d'exploitation (A. CASTRIC-FEY).

2) Sur le substrat meuble : en ce qui concerne la production primaire, D. BOUCHER a étudié l'activité du microfytobenthos comme source de carbone organique dans la chaîne alimentaire au niveau des sédiments fins de la Baie de Concarneau. Ce travail doit faire l'objet d'une prochaine soutenance de Thèse de 3e Cycle.

Une troisième série de dragages dans l'Archipel des Glénan doit donner matière à l'établissement d'une carte sédimentologique de la macrofaune benthique. Sur les six espèces les plus représentées dans les populations de mollusques lamellibranches (4 Veneridae, 1 Cardiidae, 1 Tellinacea), on a pu déterminer deux types de gamétogenèse : a) une maturation lente et dont la ponte, bien que plus intense en période estivale, reste présente pendant la quasi-totalité de l'année (Veneridae) ; b) une ponte brutale et fugace chez Cardiidae et Tellinacea, suivie d'un long repos gonadique. La variation de la structure biochimique des oocytes au cours de la gamétogenèse va être vérifiée (dosage de RNA et DNA). Les mesures qualitative et quantitative des protéines dans les oocytes, l'hépatopancréas et le manteau pendant la maturation sexuelle devraient faire apparaître l'influence de la gamétogenèse sur la croissance de l'animal et de la coquille.

L'étude de la croissance et de l'évolution des populations de mollusques va être poursuivie cette année (D. BOURON).

C. CHASSÉ a étudié l'importance relative des divers maillons des chaînes alimentaires et il a recherché une formulation des lois d'alométrie de la production.

M. GLÉMAREC a étudié les fluctuations saisonnières, la reproduction, le recrutement des espèces pilotes des peuplements de la Baie de Concarneau.

ENSEIGNEMENT

Comme chaque année, un stage pratique au niveau de la licence dirigé par M. Y. LE GAL a réuni 10 participants.

LE MARINARIUM

Ouvert au public depuis le 15 avril 1972, le Marinarium a reçu à ce jour plus de 18.000 visiteurs. Actuellement, certaines parties de l'exposition consacrées en particulier à l'évolution sont complétées par des pièces nouvelles.

Une exposition photographique sera également organisée au cours de l'été.

ACCUEIL DE CHERCHEURS FRANÇAIS ET ÉTRANGERS

La laboratoire a accueilli pour des séjours supérieurs à trois mois :

Mlle S. ANDRÉ (E.P.H.E., Paris) : recherches sur les cycles nycthémeraux d'incorporation de l'iode chez les Algues.

M. TONEBY (Wener-Green Institute, Suède) : recherches sur la physiologie de l'œuf et de l'embryon des Oursins *Psammechinus* et *Paracentrotus*.

Mlle N. WOLFSON et M. FRY (Université Mc Gill, Montréal) : recherches sur la synthèse des protéines durant le développement des œufs d'Oursins.

Mme BERTHILLIER et M. FIOT COUTOZ (U.E.R. Lyon Sud).

Mlle DONNIER (C.E.R.B.O.M., Nice) : étude de la toxicité d'effluents de papeteries et des boues rouges de Corse au moyen des chaînes trophodynamiques.

La laboratoire de Concarneau a reçu en outre la visite de nombreux chercheurs français et étrangers parmi lesquels le Professeur HASTINGS (Harvard University) et le Docteur AUBERT (C.E.R.B.O.M., Nice).

PUBLICATIONS

P. CATTO et Y. LE GAL, *Etude de la replication de l'ADN au cours du cycle végétatif de Chlamydomonas reinhardtii* (*Compt. Rend. Acad. Sc. Paris*, t. 275, 1972, p. 2801).

R. RAVA, D. RODRIGUEZ, J. TOWSE, A. VAN WORMHOUDT et Y. LE GAL, *Purification partielle et propriétés d'une désoxyribonucléase de Chlamydomonas reinhardtii* (*Compt. Rend. Acad. Sc. Paris*, t. 276, 1973, p. 1361).

A. VAN WORMHOUDT, *Sur l'activité des enzymes digestives au cours du cycle d'intermue chez Palaemon serratus* (*Compt. Rend. Acad. Sc. Paris*, t. 274, 1972, p. 1337).

L. BERTHOIS et M.H. DU BUIT, *Contribution à l'étude de la sédimentation en Atlantique Nord : zone comprise entre les Archipels Faeroe-Shetland Orcades-Hébrides* (Bull. Inst. Géol. Bassin Aquitaine, t. 11, 1971, p. 365).

L. BERTHOIS, G.A. AUFFRET, M.H. DU BUIT et R. KEARY, *Contribution à l'étude hydrologique et à la sédimentation dans la Baie de Galway (Eire)* (Ann. Inst. Océanogr. Paris, t. 48, 1971-1972, p. 17).

G. DESSE, *Epiphysite des phalanges et triphalangie du pouce* (Actualités de Médecine et de Chirurgie du pied, t. 7, 1973, p. 28).

— *Luxation congénitale de la hanche* (in *Collection Travaux et Documents INED*, Presses Universitaires de France, Paris, 1973).

A. CASTRIC-FEY, A. GIRARD-DESCATOIRE, F. LAFARGUE et M.T. L'HARDY-HALOS, *Etagement des Algues et des Invertébrés sessiles dans l'Archipel des Glénan. Définition biologique des horizons bathymétriques* (Helgoländer Wiss. Meeresunters, t. 24, 1973, p. 490).