

triques de reproduction des 2 espèces se chevauchent si bien que l'hypothèse d'une seule et unique espèce peuplant les côtes de l'Europe a été posée¹⁵. La longue migration catadrome d'*Anguilla anguilla* pour parvenir à son lieu de reproduction a été mise en doute. Pourtant quelques légères différences anatomiques les identifient (nombre de vertèbres, myomères).

L'étude de la répartition des phénotypes de transferrines sur 2 lots équivalents de ces espèces était donc d'un grand intérêt. Comme le montre le Tableau, il existe des différences très considérables dans la répartition des phénotypes chez ces 2 espèces¹⁶: le phénotype B, qui a une fréquence de 30,3% chez *A. anguilla*, est beaucoup plus répandu chez *A. rostrata* atteignant, chez cette espèce, une fréquence de 75,25%.

Le phénotype A et le phénotype AC, ayant des fréquences respectivement de 8,45% et 5,63% chez *A. anguilla* n'ont pas été observés chez *A. rostrata*.

Le phénotype AB, qui a une fréquence de 33,8% chez *A. anguilla*, est beaucoup plus rare chez *A. rostrata* (fréquence de 9,52%).

Le phénotype BC (fréquence 19,70%) chez *A. anguilla*, est également plus rare (fréquence 13,33%) chez *A. rostrata*.

Enfin, chez *A. rostrata*, nous avons pu observer un phénotype C très rare puisque non encore observé jusqu'alors parmi les anguilles que nous avons étudiées. S'il existe des différences considérables entre la fréquence de ces phénotypes de transferrines chez ces 2 espèces, notons cependant que sur le plan immunologique, la structure de la transferrine de *A. anguilla* et de *A. rostrata* apparaît identique. L'examen comparatif du sérum d'*Anguilla anguilla* et d'*Anguilla rostrata*, marqués au ⁵⁹Fe et examinés en double diffusion en gélose par un immun sérum antisérum d'*Anguilla anguilla*, montre après révélation autoradiographique des lignes de précipitation spécifiques de la transferrine, une réaction d'identité immunologique de la transferrine de ces 2 espèces.

Des résultats obtenus dans le même temps par SICK et al.¹⁷ sur la présence d'un allèle de l'hémoglobine présent seulement chez *A. rostrata*, apporte un argument supplémentaire en faveur de l'autonomie de ces 2 espèces.

Les anguilles qui ont dû prendre naissance dans les mers chaudes et salées de la Mesogée sont probablement restées fidèles aux conditions ancestrales; d'où leur migration ontogénétique vers les mers chaudes. On ne peut qu'évoquer l'ancienne hypothèse^{18,19} selon laquelle la mer des Sargasses s'est réalisée par un effondrement progressif d'ouest en est d'un continent ancien.

On comprend que 2 espèces distinctes, existant l'une à l'ouest, l'autre à l'est de ce continent, se soient trouvées alors mélangées. L'américaine est restée proche de son

lieu d'origine alors que l'europpéenne a dû s'adapter à des distances de migration de plus en plus longues à la suite de ces événements géologiques.

Signalons que les œufs d'*Anguilla anguilla* possèdent des globules graisseux et un vitellus abondant alors que les œufs d'*Anguilla rostrata* en sont dépourvus; adaptation qui paraît, sans être finaliste, faciliter la continuité de l'espèce²⁰.

Conclusions. En conclusion, l'existence chez l'anguille d'un système de groupes sériques porté par la transferrine, permet de montrer des différences dans la répartition des phénotypes de ces groupes d'une part chez 2 espèces d'anguilles (*A. anguilla* et *A. rostrata*) jusqu'alors considérées par certains auteurs comme identiques et, d'autre part, d'observer des différences à l'intérieur d'une même espèce (*A. anguilla*), selon l'origine géographique des populations étudiées²¹.

Summary. A study of transferrins of the eel by paper electrophoresis, using a serum labelled with Iron 59, was carried out on 340 different individuals. The phenotypes of transferrins thus determined are differently distributed in the European eel (*Anguilla anguilla*) and in the American eel (*A. rostrata*); the difference between these 2 species is thereby made clear. Within the same species (*A. anguilla*), it is also possible to observe different distributions of phenotypes according to the geographical origin of the individuals under study (French Atlantic coasts, French and Greek Mediterranean coasts).

ANDRÉE DRILHON et J. M. FINE

Laboratoire de physiologie des êtres marins, Institut Océanographique, Paris 5e et Laboratoire d'Immunochimie, Centre National de Transfusion Sanguine, Paris 15e (France), 15 novembre 1967.

¹⁵ D. TUCKER, Nature 183, 495 (1959).

¹⁶ J. M. FINE, A. DRILHON, G. RIDGWAY et G. A. BOFFA, C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci., Paris 265, 58 (1967).

¹⁷ K. SICK, E. BAHN et O. FRYDENBERG, Nature 214, 1141 (1967).

¹⁸ H. GERMAIN, L. JOUBIN et E. LE DANOIS, Géographie 39, 281 (1923).

¹⁹ E. LE DANOIS, L'Atlantique: Histoire d'un Océan (Payot, Paris 1938).

²⁰ M. POLAND-FISH, Zoologica 5, 289 (1927).

²¹ Remerciements: Nous remercions très vivement les Docteurs LEMOS et ANTONATOS (Grèce) pour leur hospitalité et le Docteur G. RIDGWAY (Booth Bay Harbor-Maine (USA) qui nous a adressé des échantillons d'*Anguilla rostrata*.

Effects of Ornithine⁸-Oxytocin and Ornithine⁸-Vasopressin on the Permeability of Toad Skin

BOURGUET and MAETZ¹ have proposed that neurohypophyseal hormones may act on amphibian target organs in 2 ways, exerting a hydrosmotic and a natriuretic effect. Across the amphibian skin this leads to increased water movement in 2 ways, one by virtue of increased permeability whereby a more rapid osmotic flow occurs, and the other by virtue of increased sodium transport whereby an additional gradient is generated and more water accompanies the sodium. It has been suggested² that the skin of the live toad *Bufo melanostictus* offers, by virtue of its capacity to respond in these 2 ways, a

means of investigation of the hydrosmotic and natriuretic effects of neurohypophyseal peptides and their analogues.

Hydrated toads, having the cloaca occluded, and kept either in distilled water or in 0.1% sodium chloride, showed a steady rate of fluid uptake across the skin. When vasotocin or similar peptides were injected i.m. the rate of fluid uptake was augmented, and this increase

¹ J. BOURGUET and J. MAETZ, Biochim. biophys. Acta 52, 552 (1961).

² A. B. ELLIOTT, Experientia 23, 220 (1967).

during the first $\frac{1}{2}$ h following the injection could be expressed as a % of the basic rate before treatment.

Using this technique, dose-response curves have been prepared for various peptides in respect of their effect in augmenting water uptake across the toad skin in the absence or in the presence of sodium chloride. In the first instance, when the animals were bathed in distilled water, only a hydrosmotic effect could be produced (see Figure 1). In the second instance, when the animals were bathed in 0.1% NaCl solution, since sodium was available for transport a natriferic effect could be present, and would be evidenced by a further augmentation of water movement as water followed the transported sodium (see Figure 2). Thus the dose-response curve would be shifted to the left if the peptide were exerting a natriferic as well as a hydrosmotic effect.

The synthesis by BERDE et al.³ of hormone analogues having ornithine in position 8 has made it possible, using *B. melanostictus* in this way, to examine the hydrosmotic

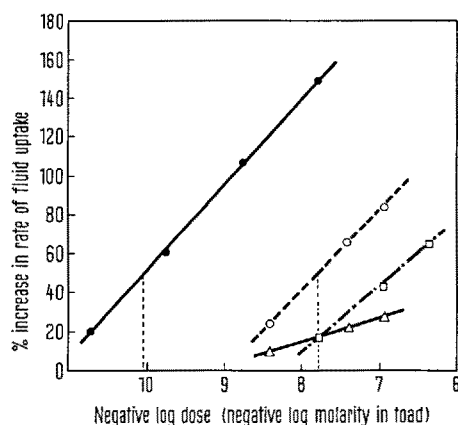


Fig. 1. Relationship between dose of peptide and % increase in rate of fluid uptake during the $\frac{1}{2}$ h immediately following i.m. injection; toads bathed in distilled water. Lines drawn by eye. ●—● arginine⁸-vasotocin; ○—○ ornithine⁸-oxytocin; □—□ lysine⁸-vasopressin; △—△ ornithine⁸-vasopressin. The concentration of peptide producing 50% augmentation of rate of uptake is marked thus

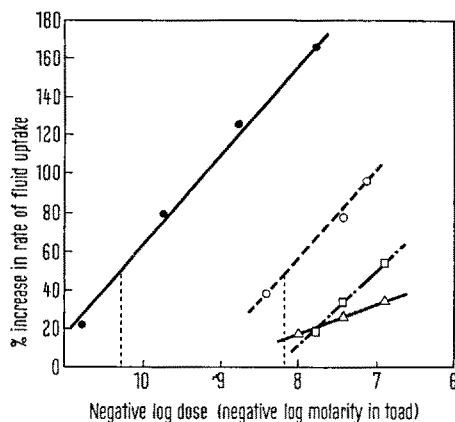


Fig. 2. Relationship between dose of peptide and % increase in rate of fluid uptake during the $\frac{1}{2}$ h immediately following i.m. injection; toads bathed in 0.1% NaCl. Lines drawn by eye. ●—● arginine⁸-vasotocin; ○—○ ornithine⁸-oxytocin; □—□ lysine⁸-vasopressin; △—△ ornithine⁸-vasopressin. The concentration of peptide producing 50% augmentation of rate of uptake is marked thus

and natriferic effects of peptides having alternatively arginine or ornithine in position 8, and thus to attempt an assessment of whether it is the spatial position, as suggested by RUDINGER and JOST⁴, or the basicity, as suggested by BERDE et al.³, of the amino group of position 8 which determines the activity of the peptide in augmenting permeability.

Arginine⁸-vasotocin has been previously demonstrated² to exert a hydrosmotic effect similar to that of arginine⁸-vasopressin. It is now shown (Figure 1) that substitution of ornithine in position 8 (ornithine⁸-oxytocin) leads to a reduction, by a factor of about 200, of the hydrosmotic effect. It would appear that ornithine cannot effectively replace arginine, and that the basicity of the side chain in position 8 is indeed all important in producing the hydrosmotic effect.

When the animals are bathed in 0.1% NaCl solution, and the possibility of a natriferic effect exists, then Figure 2 shows that the dose-response curves for arginine⁸-vasotocin and ornithine⁸-oxytocin are both shifted to the left. To facilitate comparison, the concentration of peptide required to produce 50% augmentation of fluid uptake is marked in Figure 1 and Figure 2. It must be supposed that both peptides lead to an increased rate of sodium transport and hence to a further augmentation of water uptake. This natriferic effect can be correlated with the identity of the ring structure of these 2 peptides, and the fact that both have isoleucine in position 3. The results offer further corroboration of MOREL and BASTIDE's suggestion⁵ that isoleucine in position 3 is necessary if a peptide is to show natriferic action.

Further confirmation of the significance of isoleucine in position 3 is seen in the dose-response curves for lysine⁸-vasopressin and ornithine⁸-vasopressin. Both differ from the natural hormone arginine-vasotocin in position 3 and in position 8. Having less basic amino acids in position 8 they are, as might be expected, much less potent than arginine-vasotocin in their hydrosmotic effect (Figure 1). Their dose-response curves in Figure 2 are almost identical with those in Figure 1, showing that they do not exert a natriferic effect, and since they both have phenylalanine in position 3, this offers further confirmation of the significance of isoleucine in position 3 if natriferic action is to be produced⁶.

Résumé. En employant des crapauds pour doser l'action des peptides sur la perméabilité de la peau, l'effet hydrosmotique de l'arginine⁸-vasotocine s'est montré 200 fois plus puissant que celui de l'ornithine⁸-oxytocine. Ce fait confirme l'importance hydrosmotique de l'acide aminé arginine dans la position 8. Tous 2 ont eu un effet natriférique, mais ce ne fut pas le cas de la lysine⁸-vasopressine et l'ornithine⁸-vasopressine. L'importance natriférique de l'acide aminé isoleucine dans la position 3 en est confirmée.

ANNIE B. ELLIOTT

Department of Physiology, University of Singapore (Singapore), 28 December 1967.

³ B. BERDE, R. A. BOISSONNAS, R. L. HUGUENIN and E. STÜRMER, *Experientia* 20, 42 (1964).

⁴ J. RUDINGER and K. JOST, in *Oxytocin, Vasopressin and their Structural Analogues* (Ed. J. RUDINGER; Pergamon Press, London 1964).

⁵ F. MOREL and F. BASTIDE, in *Oxytocin, Vasopressin and their Structural Analogues* (Ed. J. RUDINGER; Pergamon Press, London 1964).

⁶ Acknowledgment: Peptides were kindly supplied by Dr. B. BERDE of Sandoz AG, Basle.