

MÉTABOLISME ET OSMORÉGULATION CHEZ UNE ANNÉLIDE OLIGOCHÈTE DE LA MÉIOFAUNE *MARIONINA ACHAETA* LASSERRE

par

Pierre Lasserre

Institut de Biologie Marins, Université de Bordeaux
33120 Arcachon, France

Résumé

Marionina achaeta Lasserre est une Annélide oligochète Enchytraeidae, largement répartie dans les milieux estuariens. L'étude détaillée de propriétés osmorégulatrices, liées au métabolisme respiratoire, montre que cette espèce est plus particulièrement adaptée à un environnement lagunaire de type méso-oligohalin. La demande énergétique, non négligeable, est modulée de 25 à 3 p. 1000, limites entre lesquelles la consommation d'oxygène est maintenue constante. Les régulations de volume mises en évidence sont associées à des transports ioniques assurant une adaptation probablement de type hyperosmotique et pouvant s'ajuster très rapidement au régime mixohalin.

Introduction

Dans les milieux estuariens soumis à une grande instabilité climatique et chimique, les problèmes de compétition entre communautés benthiques ne se posent que secondairement en termes d'espace et de nourriture disponibles. Les espèces possédant les stratégies d'adaptation écophysiologique les plus élaborées (euryhalinité, eurythermie, euroxybiontie, etc.), auront un avantage compétitif marqué vis-à-vis d'espèces moins bien armées sur ces plans. A cet égard, les communautés méiobenthiques permanentes présentent un ensemble de caractéristiques écophysiologiques qui leur permettent de proliférer dans les habitats estuariens.

Marionina achaeta Lasserre 1964 est une Annélide oligochète de la famille des Enchytraeidae, très largement répandue dans les milieux lagunaires. Son écologie et sa répartition géographique ont été décrites (Lasserre, 1966, 1967, 1971b, c). Cette Annélide, facile à élever (Lasserre 1975 a), tolère au laboratoire des variations importantes de température, d'oxygène et de salinité (Lasserre, 1971 a ; Lasserre et Renaud-Mornant, 1973). Certaines particularités osmorégulatrices, rattachées à des aspects énergétiques, ont fait l'objet de travaux antérieurs (Lasserre, 1969, 1970, 1971 a). L'analyse statistique des régressions linéaires liant la consommation d'oxygène au poids montrait

notamment l'existence d'un plateau adaptatif pour un domaine de salinité compris entre 25 et 3 p. 1000. Le caractère rapide de cette compensation métabolique était souligné.

Ces recherches, effectuées sur des animaux récoltés dans le Bassin d'Arcachon (Lasserre, 1966), sont reprises et complétées, dans le présent travail, suivant deux directions :

analyse expérimentale des modifications volumiques et respiratoires observées chez des individus soumis à des chocs hyper- ou hypo-osmotiques ;

mise en évidence d'éventuelles régulations intervenant au cours de délais plus ou moins longs.

Matériel et méthodes

La technique de récolte des échantillons de sédiment et des Oligochètes a fait l'objet de publications antérieures (Lasserre, 1966, 1967). Afin d'éviter d'éventuelles variations saisonnières dans la réponse des animaux, toutes les séries expérimentales ont été étudiées sur des générations de printemps, du début avril à la fin juin 1972 et 1973. Les animaux, très abondants à cette époque, sont récoltés par la méthode la plus rapide de simple lévigation, sans anesthésie préalable (Hulings et Gray, 1971). Les animaux sélectionnés sont des adultes immatures et de taille homogène. Ils sont placés par lots de 10 individus dans des salières de verre contenant une eau de mer naturelle à 22 ou à 5 p. 1000, préalablement filtrée sur Millipore de 0,22 μ m. Toutes les séries sont maintenues en inanition à une température moyenne de $19^{\circ}\text{C} \pm 1$ qui correspond à la température moyenne de l'habitat à l'époque considérée. Les mesures de variation de volume et de consommation d'oxygène sont réalisées sur des séries gardées en élevage 8 à 12 jours.

Mesure des variations de volume.

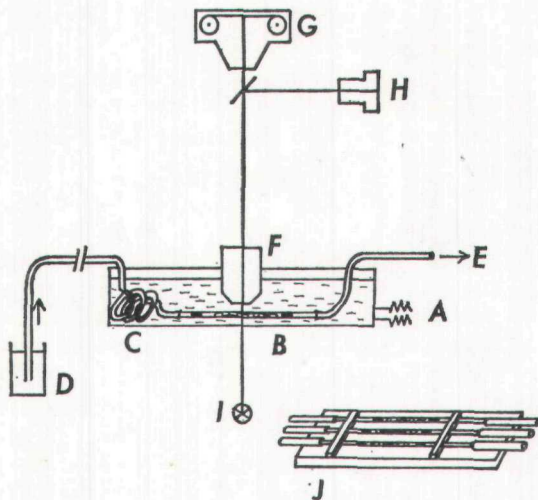
Les variations volumiques, chez un animal, entraînent des modifications corrélatives du poids, mais les déterminations de poids frais par pesée directe sont pratiquement impossibles chez les animaux méiobenthiques, soumis à une trop rapide déshydratation. Un dispositif, schématisé Fig. 1, a permis de suivre avec une précision suffisante les modifications de volume chez un animal entier soumis à des chocs osmotiques de plus ou moins grande amplitude. Les variations volumiques sont enregistrées sur des clichés photographiques pris à intervalles réguliers. L'ensemble comprend un microscope Zeiss équipé d'une chambre photographique contenant un film à haute sensibilité (800 ASA). La platine du microscope supporte une cuvette en plastique dans laquelle circule de l'eau à température régulée ($19^{\circ}\text{C} \pm 0,1$) et qui contient un support en verre (lame de microscope) où sont fixés trois tubes capillaires calibrés. Le diamètre de chaque tube (100 à 180 μ m) est choisi pour permettre à l'Oligochète de se mouvoir librement en longueur (Fig. 1). Le tube contenant l'animal est ensuite obturé aux deux bouts par de minuscules bouchons de gaze laissant passer librement les solutions salines. Les tubes sont raccordés par de fins tuyaux en nylon à une pompe péristaltique multicanaux. Plusieurs séries de tubes fixés sur leurs supports peuvent être étudiées. La circulation des solutions salines, dans chaque tube, est réglée de façon à renouveler tout le liquide contenu dans le tube et le tuyau d'arrivée en 3 minutes (débit très faible de 0,4 ml par heure). L'éclairage est réduit au minimum et chaque cliché photographique est réalisé au 1/60 de seconde. Avec un grossissement total

du microscope de 128, on obtient une image des segments postclitelliens sur un seul cliché. Le développement et le tirage sur papier sont effectués en observant toujours le même rapport de grandissement. Un volume moyen des segments est obtenu pour chaque animal testé, à partir de mesures portant sur les segments 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26. Chaque segment est assimilable à un cylindre droit de révolution. Les dimensions (longueur, diamètre) sont déterminées sur les repères suivants : points d'attache des dissepiments, pour la longueur, côté externe de la cuticule, pour le diamètre.

FIG. 1

Schéma du dispositif utilisé pour la mesure des variations de volume de *Marionina achaeta*.

A, cuvette thermostatée ; B, tube capillaire calibré contenant l'oligochète ; C, tuyau de raccordement, vers le récipient D et la pompe péristaltique E ; F, objectif de microscope à immersion ; G, appareil photographique ; H, éclairage ; J, support avec trois tubes capillaires.



Mesures microrespirométriques.

L'intensité respiratoire des animaux isolés est mesurée à l'aide d'un ensemble de microrespirométrie à ludions (Cartesian diver) suivant la technique originale de Holter (1943), Linderström-Lang (1943), modifiée (Lasserre, 1969, 1971a, 1975 b). La température de 19 °C est régulée au 1/100 °C. Une méthode spéciale de remplissage des ludions (Lasserre, 1969) permet de modifier la composition saline du milieu au cours des mesures de respiration et de tester l'action de composés inhibiteurs divers (ouabaine notamment). Les divers réactifs (Fig. 2) sont déposés sous forme de gouttes concentrées de 0,1 µl sur la face interne du col du ludion, préalablement siliconnée. Le ludion de type standard (volume 5 à 10 µl) est rempli en premier lieu avec une solution 0,1 N de NaOH rendue isotonique à la solution saline contenant l'animal. Par le jeu de pressions positives exercées sur l'extrémité ouverte du ludion, par l'intermédiaire du manomètre, on peut faire glisser, vers le bas, les ménisques le long de la paroi du col du ludion et faire entrer en contact le milieu contenant l'animal successivement avec les réactifs 1, 2 ou 3. Il est ainsi possible de modifier en cours d'expérience la composition initiale du milieu, les volumes des solutions et leurs concentrations étant connus avec précision. La durée maximale de remplissage de chaque ludion est de 5 minutes. La préparation de chaque expérience, qui consiste généralement à remplir 6 ludions, ne dépasse jamais 20 minutes et la durée totale des mesures n'excède pas 7 heures, afin d'éviter une baisse de la tension d'oxygène, à l'intérieur de la chambre de respiration, supérieure à 6 p. 100 de la saturation du milieu en air. Les qualités d'herméticité et de stabilité des ludions « standards » sont reconnues (Holter, 1943 ; Lasserre, 1975 b). La sensibilité obtenue est largement suffisante pour mesurer des consommations horaires d'oxygène de 10^{-3} à 10^{-2} µl par heure et par animal. Chaque série est répétée 4 à 8 fois. Les résultats sont exprimés en microlitre $\times 10^{-3}$ d'oxygène consommés par individu et pour des intervalles de temps de 15 minutes ou de 7 minutes 30 secondes. Les Oligochètes sélectionnés pour les mesures de microrespirométrie sont soumis à un jeûne préalable strict de 8 à 10 jours. Ils sont gardés par groupes de 8 individus dans de petites boîtes de Pétri (diamètre 5 cm) stérilisées et contenant une fine couche de sable lavé et stérilisé,

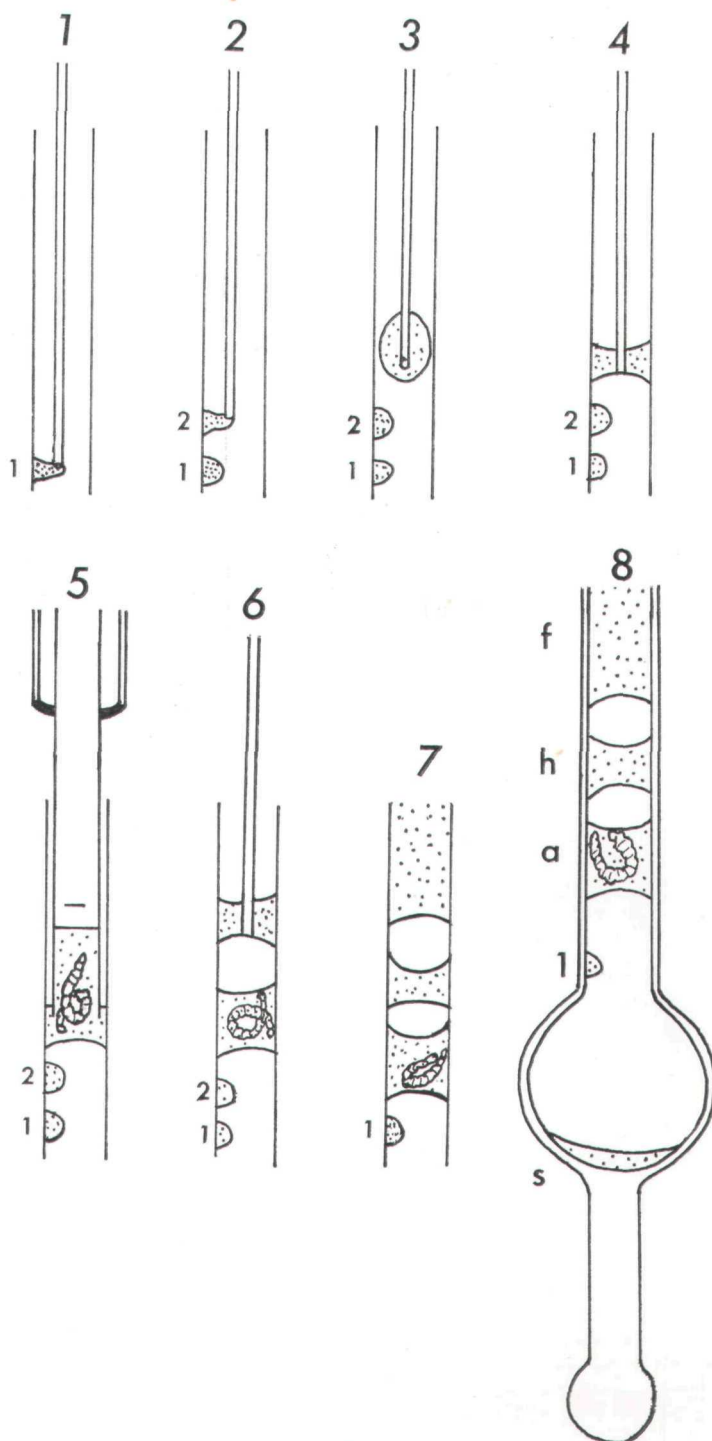


FIG. 2

Microrespiromètre à ludion (Cartesian diver).

Technique de remplissage d'un ludion avec réactifs « 1 » et « 2 ». 7, mélange du réactif « 2 » ; 8, ludion chargé : s, soude 0,1 N ; a, animal ; h, huile de paraffine ; f, liquide de flottaison.

recouverte d'une pellicule d'eau de mer filtrée sur Millipore 0,25 μm . Un mélange antibiotique contenant 25 unités par ml de pénicilline et de streptomycine est additionné au milieu d'élevage et l'eau est renouvelée toutes les 8 heures. Ce traitement est stoppé 5 heures avant le début des mesures de respiration. Les animaux sont alors transférés dans un milieu filtré de même salinité mais sans antibiotique.

Composition des milieux d'adaptation et de transfert.

Les milieux d'adaptation et de transfert sont composés d'eaux de mer naturelles ou artificielles, d'eau douce, d'eau déionisée, de solutions isosmotiques à l'eau de mer avec mannitol ou à ions Na^+ ou Cl^- substitués par des ions réputés imperméants (choline et propionate). Enfin, des solutions salines contenant de l'ouabaine sont également utilisées.

1. EMN 35 : eau de mer naturelle 35 p. 1000.

concentrations en mEq/l	Na^+ 460 - 480 ; Cl^- 540 - 560 ; K^+ 10 ; Ca^{2+} 10,9 ; Mg^{2+} 55 ; So_4^{2-} 28,6 ; HCO_3^- 2,3.
-------------------------	---

2. EMA 35 : eau de mer artificielle 35 p. 1000.

concentrations en mEq/l	Na^+ 468 ; Cl^- 592 ; K^+ 9,8 ; Ca^{2+} 10,9 ; Mg^{2+} 49,2 ; HCO_3^- 6
composition (g/l)	NaCl 27 ; KCl 0,73 ; CaCl_2 2 H_2O 1,6 ; NaHCO_3 0,56 ; MgCl_2 10.

3. EMA 30 à 0,5 : eaux de mer artificielles diluées avec de l'eau douce.

	Na^+ (mEq/l)	Cl^- (mEq/l)
EMA 30	410	500
EMA 25	335	420
EMA 22	300	370
EMA 7	96	120
EMA 5	70	85
EMA 3	40	50
EMA 0,5	5	8

4. EMA 45 : eau de mer artificielle concentrée.

EMA 35 + NaCl 150 mM/l avec Na^+ 618 mEq/l et Cl^- 742 mEq/l.

5. Eau douce : Na^+ et Cl^- 0,35 mEq/l.

Eau déionisée.

6. EMA 3 + mann. : eau de mer artificielle 3 p. 1000 + 100,2 g/l de mannitol. Ce milieu est rendu isosmotique à l'eau de mer 22 p. 1000 par addition de 550 mEq/l de mannitol.

7. EMA 5 I sans Na^+ et EMA 22 / sans Na^+ : eaux de mer artificielles « sans sodium », isosmotiques à l'EMA 5 p. 1000 et l'EMA 22 p. 1000. Les ions Na^+ du NaCl sont remplacés par du chlorure de choline à 64,5 g/l (462 mEq/l), pour un milieu de départ équivalent à une EMA 35 p. 1000. Ce milieu contient encore 6 mEq/l de sodium sous la forme NaHCO_3 pour une EMA 35 p. 1000.

8. EMA 5 / sans Cl^- et EMA 22 / sans Cl^- : eaux de mer artificielles « sans chlore », isosmotiques à l'EMA 5 p. 1000 et l'EMA 22 p. 1000. Les ions Cl^- du NaCl sont remplacés par du propionate de sodium à 462 mEq/l pour un milieu de départ équivalent à une EMA 35 p. 1000.

9. EMA + ouabaine : eaux de mer artificielles ou naturelles contenant de l'ouabaine devant donner une concentration finale 10^{-9} M.

RESULTATS

Chocs osmotiques et régulations de volume

Le changement rapide de la composition osmotique et ionique du milieu externe soumet *Marionina achaeta* à un choc osmotique. Ce dernier se traduit, dans un temps très court de 1 à 5 minutes par un changement de volume de plus ou moins grande amplitude, suivant l'intensité du choc appliqué. Les variations volumiques consécutives à des chocs hyper- ou hypo-osmotiques ont été suivies sur des séries d'animaux préalablement adaptés durant 10 jours à des eaux de mer naturelles 5 et 22 p. 1000. Chaque changement de milieu est pratiquement immédiat.

1. Précision des mesures.

Pour tester la reproductibilité des mesures individuelles et tenir compte de l'amplitude des mouvements péristaltiques dus aux contractions musculaires, nous avons étudié les variations successives observées toutes les 2 minutes pour une durée totale de 30 minutes et au niveau des segments 14 à 26. L'amplitude maximale de ces mouvements est de 6 μm pour le diamètre et de 6 μm pour la longueur de chaque segment. De telles variations n'affectent pas significativement les résultats. Il faut d'ailleurs remarquer que les mouvements péristaltiques bien connus chez les vers de terre, les Naïdés et les Tubificidés sont beaucoup moins marqués chez les Enchytréides ; ils ne sont pratiquement pas marqués chez *Marionina achaeta* qui se déplace avec des mouvements lents et oscillants de tout le corps. On peut apprécier pour chaque segment référencé, des modifications à 1,5 μm près, sur des clichés photographiques dont le grossissement total est de 540. Les volumes moyens de chaque segment sont calculés à partir de 5 mesures élémentaires prises en longueur et en diamètre. Des exemples sont donnés dans le tableau 1.

2. Effets comparés d'une eau de mer naturelle et d'une eau de mer artificielle de même salinité.

Le transfert dans une eau de mer artificielle n'est suivi d'aucune variation significative de volume (Fig. 3). Les variations volumiques relatives, observées au cours d'une période de 22 heures, n'excèdent pas 3 p. 100. Dans la suite des expériences, seules les modifications volumiques supérieures à 6 p. 100 seront prises en considération.

3. Chocs osmotiques dans l'intervalle de salinité 3-25 p. 1000.

A l'intérieur des limites de salinité 3 - 25 p. 1000, les changements rapides de milieu sont suivis de modifications volumiques relatives, positives après un choc hypo-osmotique, négatives après un choc

TABLEAU 1

Modifications volumiques des segments postclitelliens après un choc hyper- ou hypo-osmotique.

Choc hyper-osmotique EMA 5 - EMA 45 (spécimen n° 512).

N° segment	Diamètre (μm)	Longueur (μm)	Volume ($\mu\text{m}^3 \times 10^5$)* (calculé)
Milieu : EMA 5			
14	88,3	100,8	6,173
16	90,6	103,1	6,647
18	93,5	102,4	6,284
20	88,7	101,7	7,031
22	89,5	101,1	6,360
24	86,6	106,5	6,273
26	91,3	103,6	6,783
$\bar{m} \pm \text{sd}$	$89,8 \pm 2,3$	$102,8 \pm 1,9$	$6,51 \pm 0,32$
Transfert EMA 45, mesures effectuées au bout de 30 minutes.			
14	69,3	93,4	3,523
16	73,7	97,2	4,147
18	70,1	99,3	3,832
20	70,8	98,7	3,886
22	68,5	96,3	3,549
24	67,3	101,1	3,596
26	73,8	98,1	4,196
$\bar{m} \pm \text{sd}$	$70,5 \pm 2,5^{**}$	$97,7 \pm 2,5^{**}$	$3,82 \pm 0,28^{**}$

Choc hypo-osmotique EMA 22 - eau douce (spécimen n° 207).

N° segment	Diamètre (μm)	Longueur (μm)	Volume ($\mu\text{m}^3 \times 10^5$)* (calculé)
Milieu : EMA 22			
14	86,8	98,5	5,829
16	87,8	98,3	5,952
18	87,0	99,1	5,891
20	87,4	97,0	5,819
22	89,5	98,2	6,178
24	88,6	97,6	6,017
26	86,2	98,5	5,748
$\bar{m} \pm \text{sd}$	$87,6 \pm 1,1$	$98,2 \pm 0,7$	$5,92 \pm 0,14$
Transfert eau douce, mesures effectuées au bout de 30 minutes.			
14	97,7	107,3	8,044
16	103,6	105,2	8,868
18	98,4	106,8	8,122
20	105,8	108,7	9,556
22	105,5	107,7	9,415
24	98,8	106,6	8,173
26	100,3	107,2	8,470
$\bar{m} \pm \text{sd}$	$101,4 \pm 3,5^{**}$	$107,1 \pm 1,1^{**}$	$8,66 \pm 0,6^{**}$

(*) L'unité $\mu\text{m}^3 \times 10^5$ est équivalente à un poids humide de 0,1 μg pour une densité de 1.

(**) Test de comparaison de moyennes : P inférieure à 0,001.

hyper-osmotique. L'amplitude de ces modifications dépend de l'intensité du choc osmotique. Les modifications de volume sont :

— peu marquées (+ 5 et — 8 p. 100) après des transferts EMA 5 à EMA 3 et EMA 22 à EMA 25 ;

— très significatives (— 16, + 17 et + 27 p. 100) après des transferts respectifs EMA 5 à EMA 22, EMA 22 à EMA 5 et EMA 22 à EMA 3.

Les augmentations de volume observées après des chocs hypo-osmotiques sont régulées dans des délais relativement courts (6 à

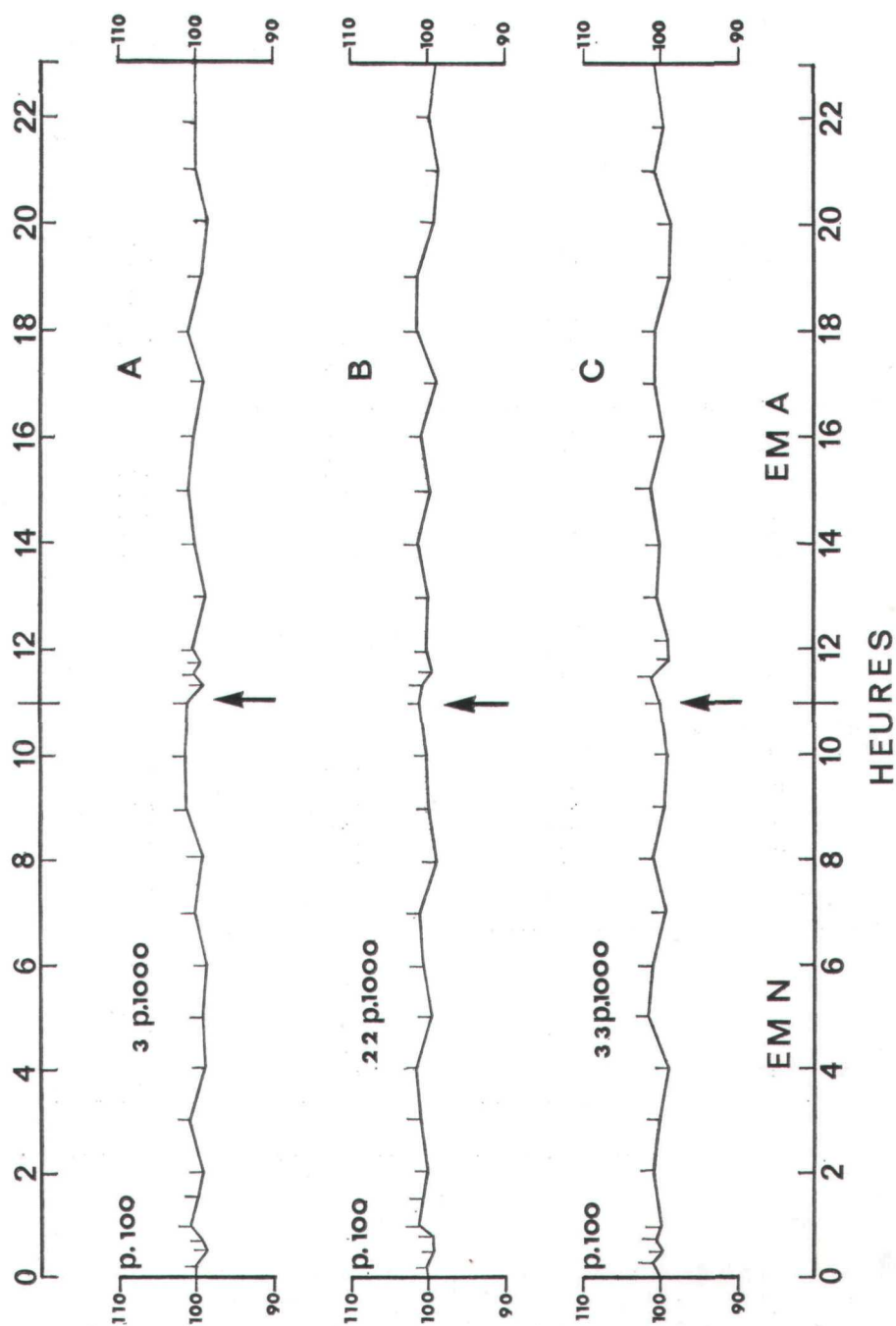


FIG. 3 A, B, C
Variations volumiques au cours du temps.

Eaux de mer naturelles (EMN) à 3, 22 et 33 p. 1000 et eaux de mer artificielles (EMA) de même salinité. Température $19^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. Les flèches verticales signalent le changement de milieu. Les points représentent, en pourcentages des valeurs de départ, les variations de volume moyennes obtenues pour six individus soumis aux mêmes conditions expérimentales. Chaque trait vertical est une moitié d'écart type.

8 heures). En revanche, les régulations de volume consécutives à des chocs hyper-osmotiques sont peu marquées ou inexistantes à court terme, mais on observe une régulation différée au bout de 10 à 15 jours (Fig. 4 et 5).

4. Transferts en eau douce, en eau de mer très diluée (0,5 p. 1000) et en eaux de mer concentrées (30, 35 et 45 p. 1000).

Eau douce, eau de mer 0,5 p. 1000 (Fig. 4 et 5).

Le transfert rapide dans l'eau douce entraîne une importante augmentation de volume (35 à 40 p. 1000), suivie d'une régulation partielle au bout de 14 à 16 heures, après les transferts respectifs EMA 5 et EMA 22 dans l'eau douce. Le transfert dans une eau de mer 0,5 p. 1000 donne lieu à des phénomènes comparables mais, dans ce cas, la régulation de volume est complète et les délais de réajustements sont plus courts (10 à 14 heures).

Eaux de mer 30 et 35 p. 1000 (Fig. 4 et 5).

Les fortes diminutions de volume (— 30 et — 40 p. 100 du volume initial), mesurées après un choc hyper-osmotique dans des eaux de salinités élevées (30 et 35 p. 1000), sont suivies de régulations volumiques mais les délais de réajustement sont considérablement augmentés : 15 jours environ pour des transferts EMA 5 - EMA 30 et 35, 10 jours environ pour des transferts EMA 22 - EMA 30 et 35.

Eau déionisée, eau de mer 45 p. 1000 (Fig. 4 et 5).

Le passage dans une eau déionisée ou, au contraire, hypertonique entraîne des variations volumiques très importantes qui ne seront suivies d'aucune régulation. Ces transferts sont d'ailleurs létaux après quelques heures.

5. Effets comparés de la pression osmotique et de la composition ionique des milieux de transfert.

Il est intéressant de déterminer si les régulations volumiques rapides (observées après un choc hypo-osmotique) ou lentes (après un choc hyper-osmotique) et mesurables dans l'intervalle de salinité 3 - 35 p. 1000, sont influencées par de simples variations de la pression osmotique ou par des changements plus spécifiques des concentrations ioniques.

Pression osmotique (Fig. 6).

Les transferts EMA 3 p. 1000 dans des milieux de même concentration ionique mais rendus isosmotiques aux EMA 22 et 35 p. 1000 par addition de mannitol, se traduisent par des diminutions de volume non suivies de régulations rapides. En revanche, le volume est régulé à long terme (5 à 15 jours), soit partiellement (Fig. 6 A), soit complètement (Fig. 6B).

Sodium (Fig. 7 et 8).

La régulation de volume est complètement supprimée à la suite de transferts dans des milieux isosmotiques à l'EMA 5 ou 22 p. 1000, mais dont le sodium a été remplacé par la choline ; on observe dans

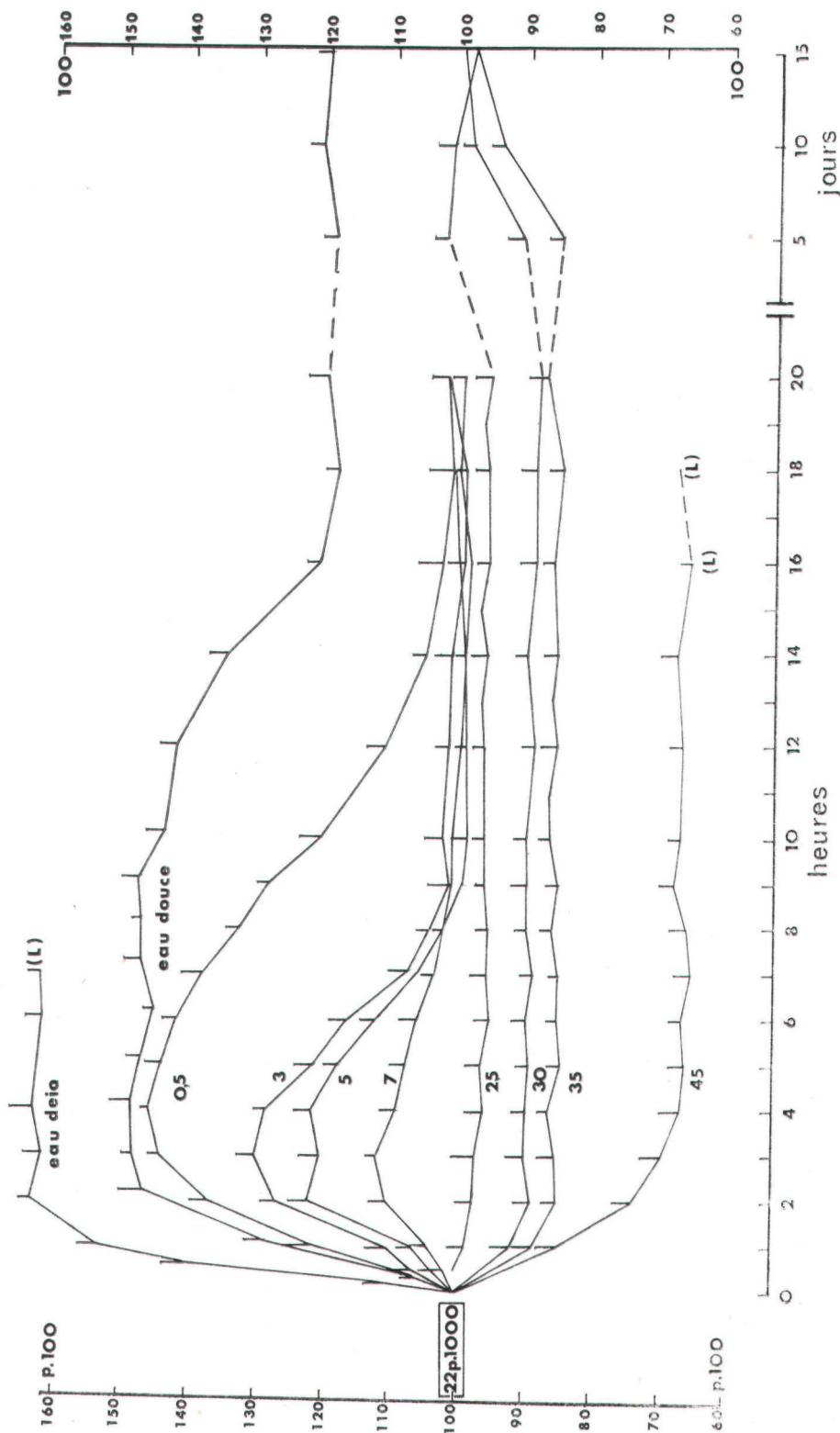


Fig. 4

Chocs osmotiques et régulations de volume en fonction du temps.

Salinité de départ 22 p. 1000 et transferts dans les milieux suivants : eau déionisée, eau douce, EMA : 0,5, 3, 5, 7, 25, 30, 35 et 45 p. 1000. Température 19 °C $\pm$ 0,5. Les points représentent, en pourcentages des valeurs de départ, les variations volumiques moyennes obtenues pour six individus soumis aux mêmes conditions expérimentales. Chaque trait vertical est une moitié d'écart type. (L) : létal.

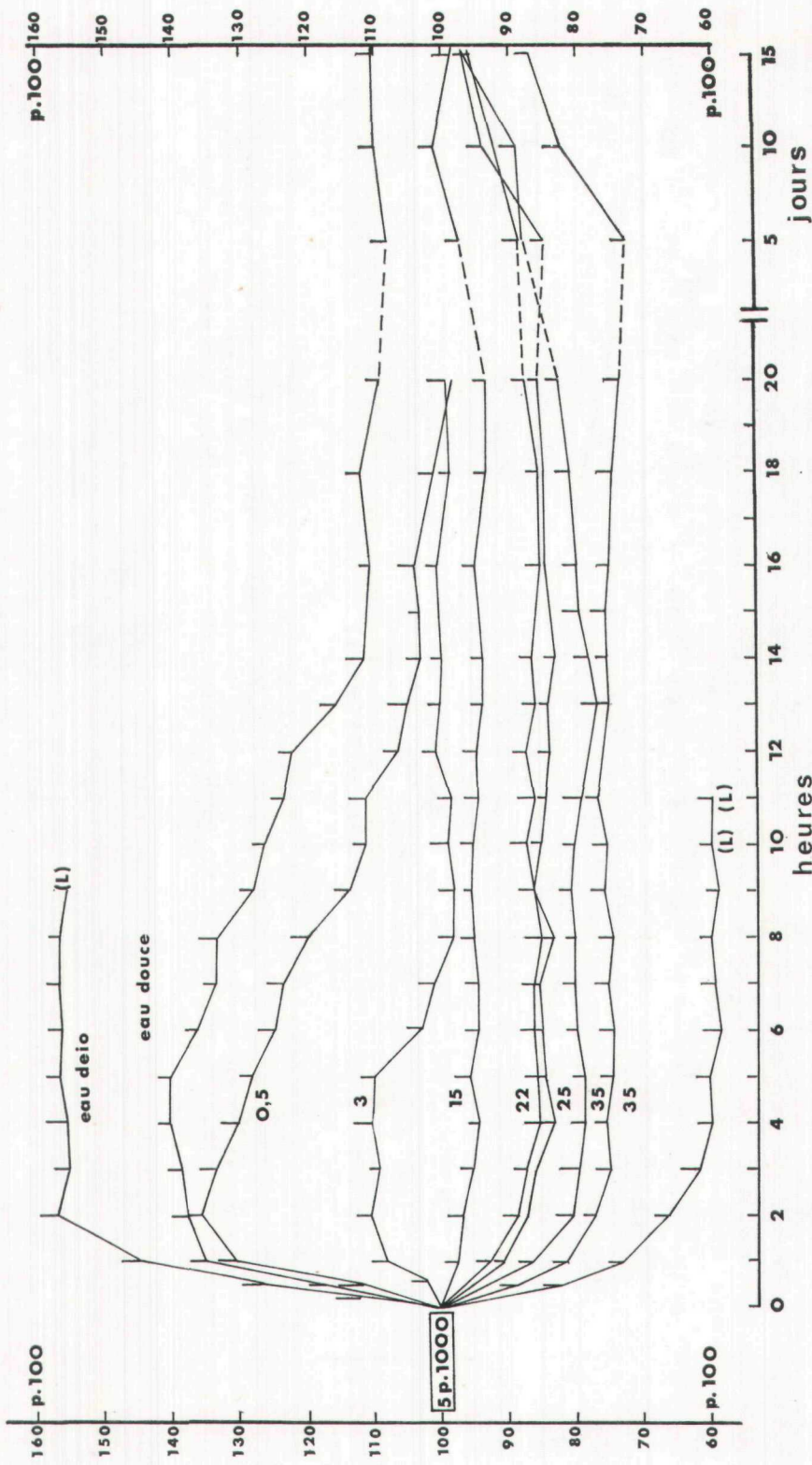


Fig. 5

Même légende que la Fig. 4. Salinité de départ 5 p. 1000 et transferts dans les milieux suivants : eau déionisée, eau douce, EMA : 0,5, 3, 15, 22, 25, 30, 35 et 45 p. 1000.

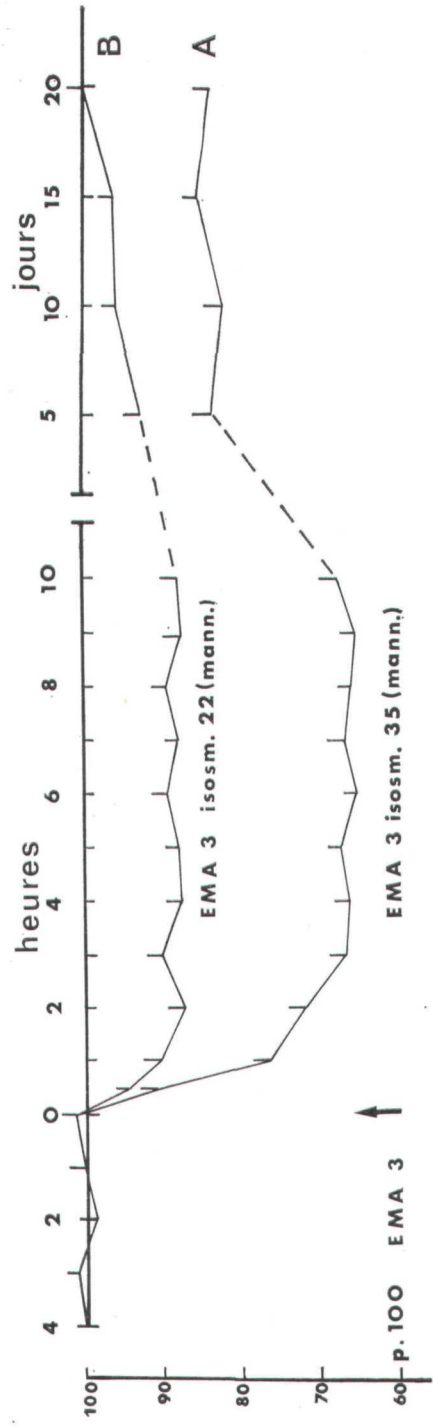


Fig. 6 A, B

Effet de l'augmentation de la pression osmotique. Transferts d'EMA 3 p. 1000 dans des milieux de même concentration ionique mais rendus isosmotiques aux salinités 22 et 35 p. 1000 par addition de mannitol. Les points représentent les variations volumiques moyennes obtenues pour six individus soumis aux mêmes conditions expérimentales. Chaque trait vertical est une moitié d'écart type. Température $19^{\circ}\text{C} \pm 0,5$.

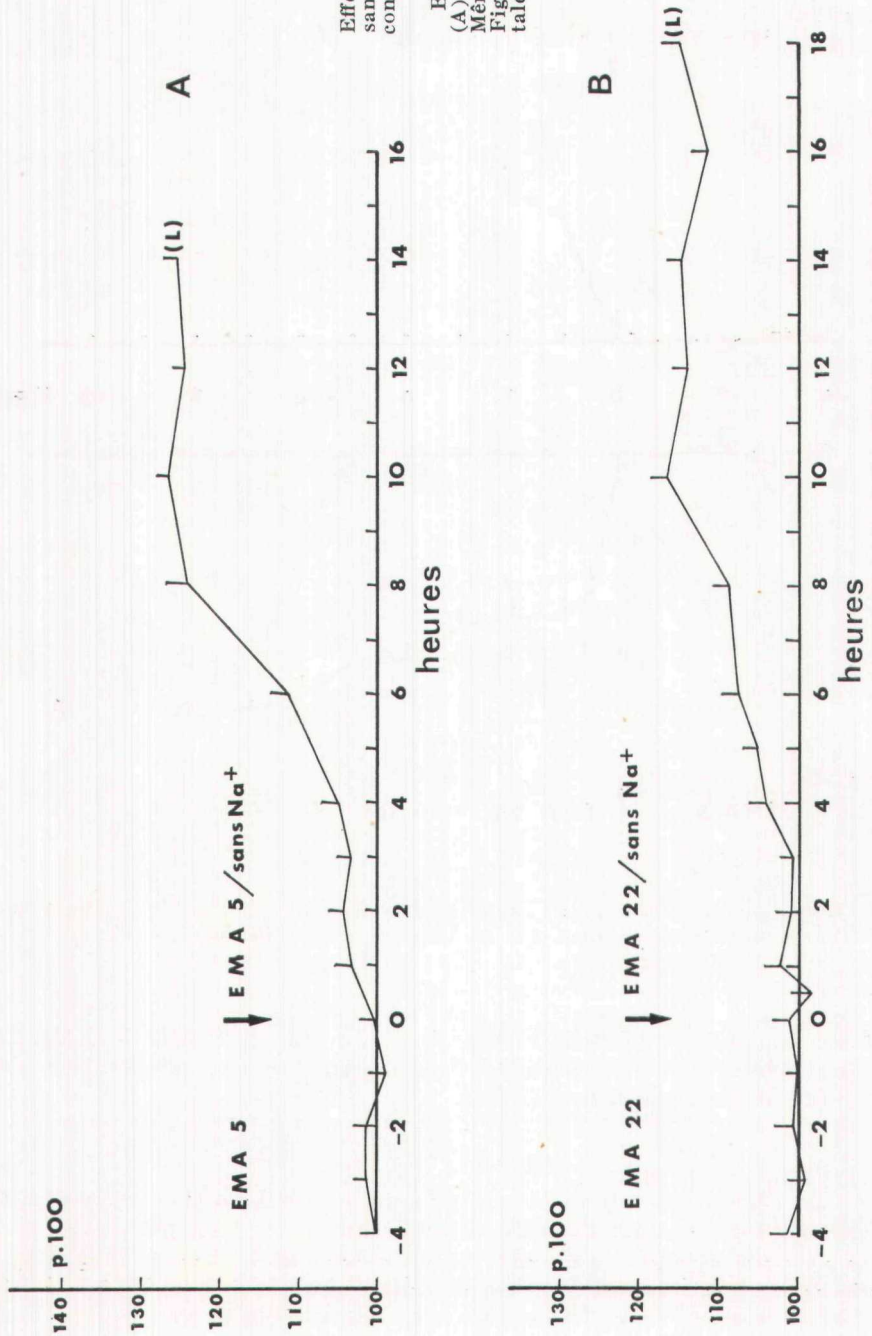


Fig. 7 A, B
Effets d'eaux de mer
sans sodium, dans des
conditions d'isomoté-
cité.
Eau de mer 5 p. 1000
(A) et 22 p. 1000 (B).
Même légende que
Fig. 6. (L) : limite lé-
tale.

les deux cas une augmentation relative du volume, létale au bout de 14 à 18 heures (Fig. 7 A, B). Un choc hypo-osmotique provoqué par un transfert d'EMA 22 dans une EMA 5 p. 1000 sans sodium, s'accompagne d'une augmentation volumique non suivie de régulation et

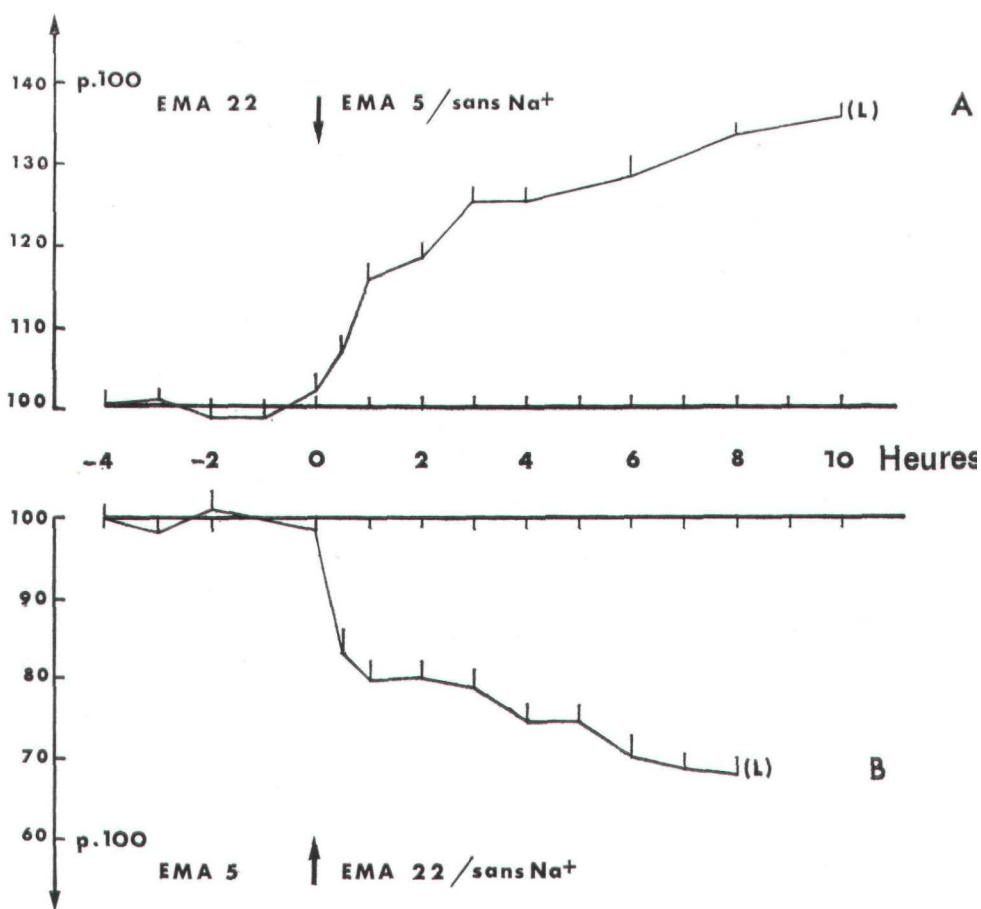


FIG. 8 A, B

Effets d'eaux de mer sans sodium, choc hypo-osmotique EMA 22 à EMA 5 (A) et choc hyper-osmotique EMA 5 à EMA 22 (B). Même légende que Fig. 6.

létale au bout de 10 heures (Fig. 8 A). Le transfert EMA 5 - EMA 22 sans sodium (choc hyper-osmotique) entraîne une diminution de volume, létale après 8 heures (Fig. 8 B).

Chlorure (Fig. 9).

La régulation volumique rapide consécutive à un choc hypo-osmotique dû au transfert EMA 22 - EMA 5/sans Cl⁻ a bien lieu, mais elle est partielle et suivie d'un effet létal au bout de 14 heures (Fig. 9B). Des chocs hyper-osmotiques consécutifs à des transferts EMA 5 -EMA 22 et 35/sans Cl⁻ sont létaux après 12 heures (Fig. 9 A).

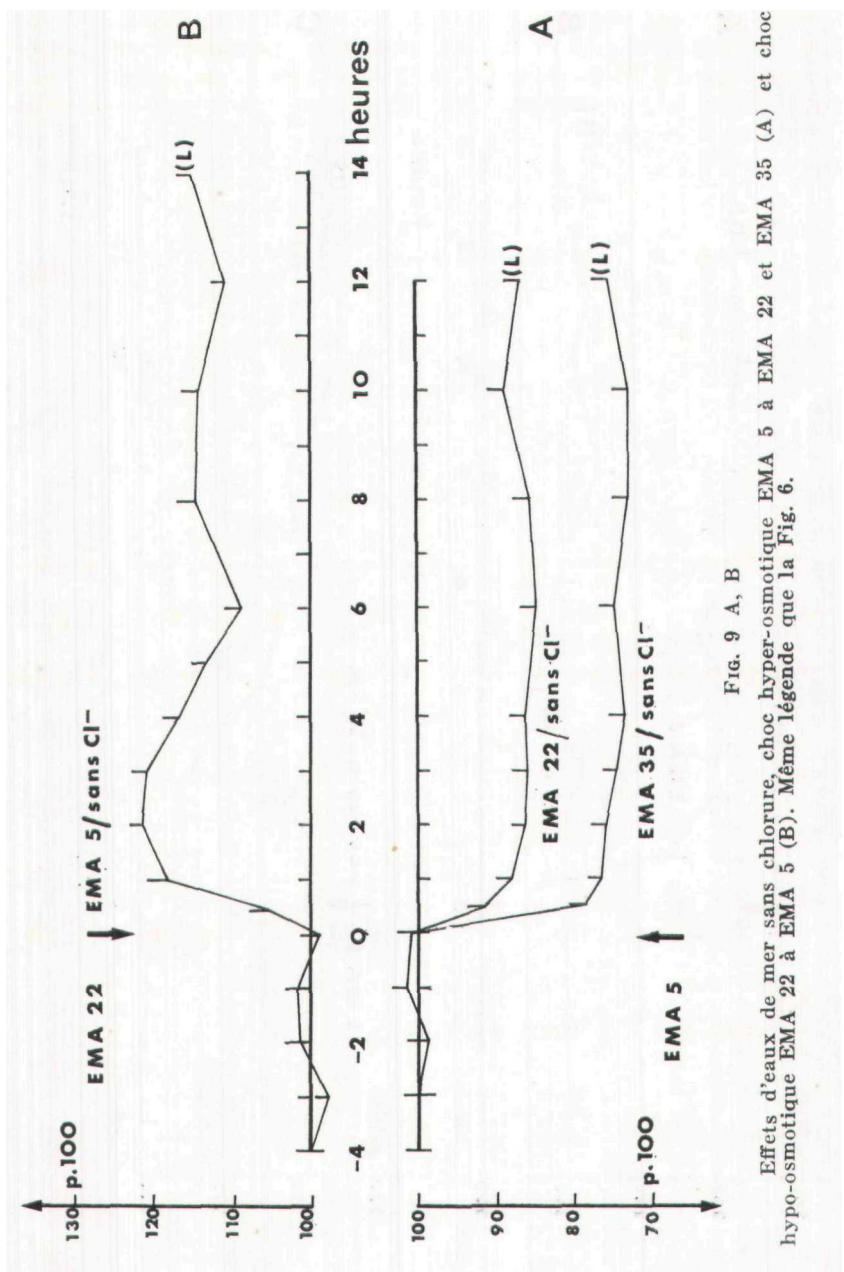


Fig. 9 A, B

Effets d'eaux de mer sans chlorure, choc hyper-osmotique EMA 5 à EMA 22 et EMA 35 (A) et choc hypo-osmotique EMA 22 à EMA 5 (B). Même légende que la Fig. 6.

6. Effet de l'ouabaine (Fig. 10).

La régulation volumique rapide observée après un choc hypo-osmotique (transfert EMA 22-EMA3) n'a pas lieu si le milieu de transfert contient de l'ouabaine en concentration finale 10^{-3} M (Fig. 10 A). On note une augmentation de volume après addition d'ouabaine (10^{-3} M), sans modification de la concentration ionique des milieux (Fig. 10 B, C). Un effet létal apparaît au bout de 12 à 14 heures.

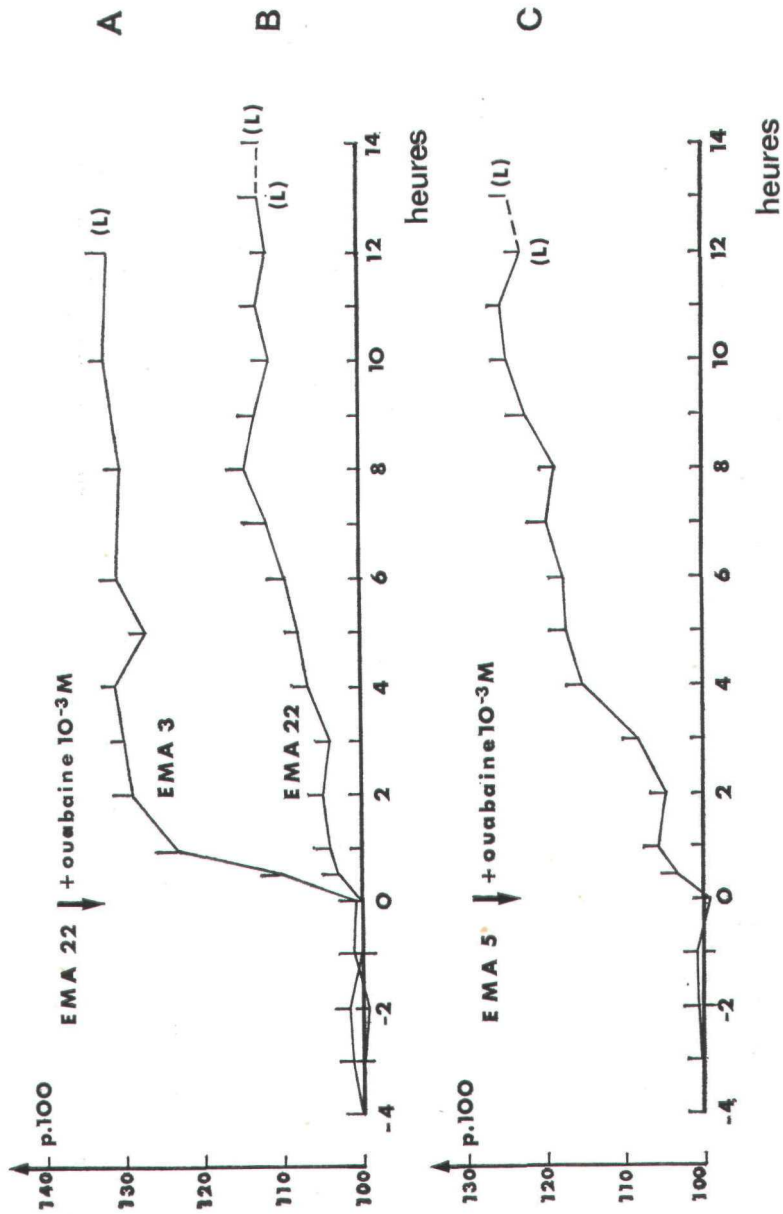


Fig. 10 A, B, C
Action de l'ouabaine ($10^{-3} M$) : choc hypo-osmotique EMA 22 à EMA 3 (A), en (B) et (C) pas de modification de la concentration ionique de milieux (EMA 22 et 5). Même légende que la Fig. 6.

Rythmes respiratoires

Une évaluation suffisamment précise de la consommation d'oxygène permet dans certains cas de déceler l'existence de fluctuations métaboliques liées aux conditions physico-chimiques du milieu. La validité de ces mesures, effectuées sur des animaux entiers, est évidemment soumise à l'évaluation des causes d'erreur : — limites de précision de l'appareillage de microrespirométrie utilisé ; — variabilité d'origine biologique.

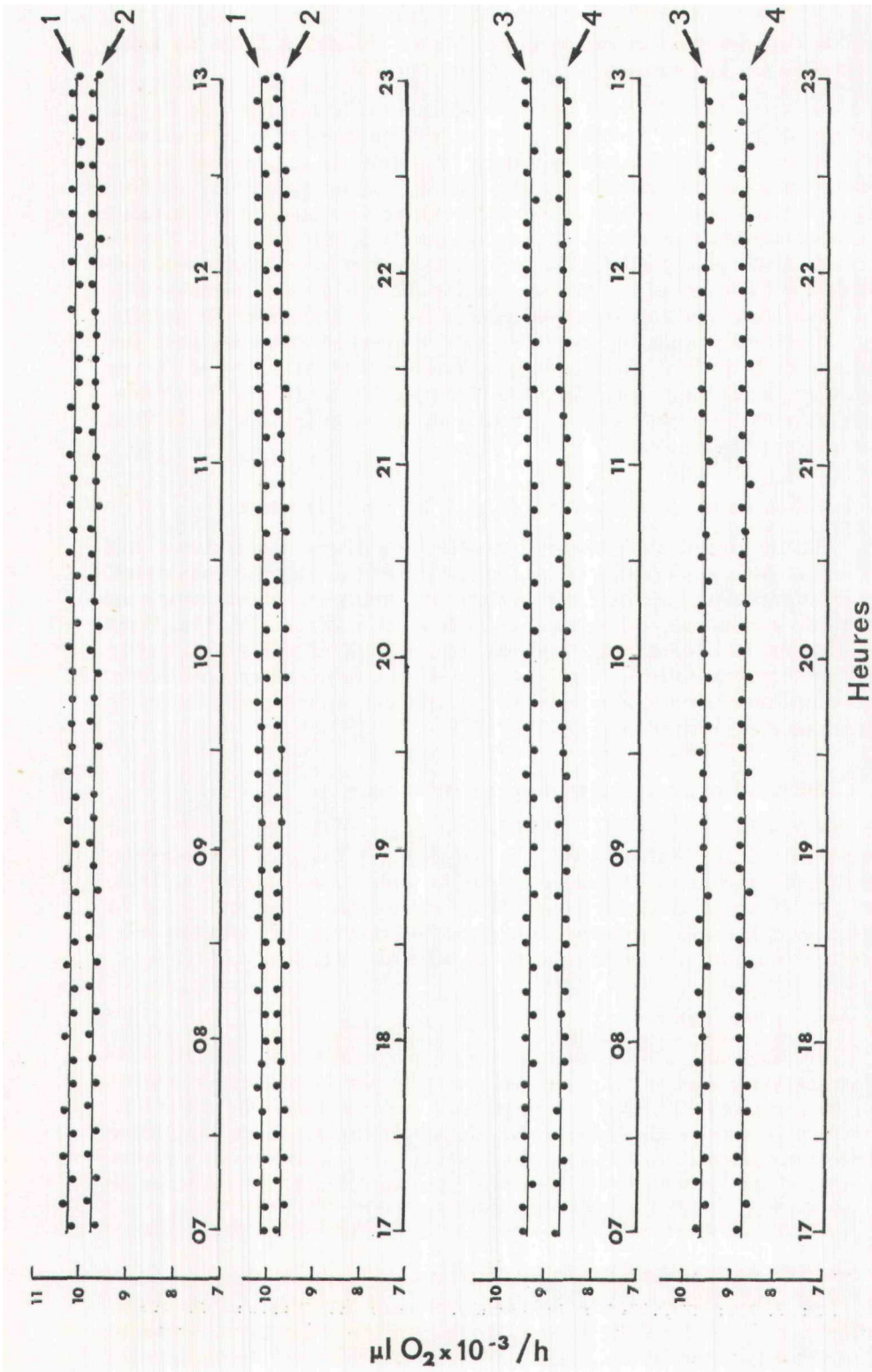


FIG. 11

Evolution de la consommation d'oxygène mesurée chez quatre *Marionina achaeta* isolées, pour des intervalles de temps successifs de 7 mn 30 s et à deux périodes de la journée (7 à 13 heures et 17 à 23 heures). Eau de mer artificielle 3 p. 1000. Température 19 °C ± 0,01.

- I. Précision **des mesures** microrespirométriques réalisées à l'aide **du** ludion (modèle de Linderstrom - Lang et Holter, modifié).

La reproductibilité des mesures définissant la précision de l'appareillage de microrespirométrie à ludion est limitée par quatre erreurs principales : — erreur commise dans la lecture de la pression d'équilibre, — erreur d'appréciation du temps, inertie propre au ludion, régulation en température. L'ensemble de ces erreurs est assimilable à une erreur unique définissant les limites de fidélité propres à l'appareillage. Cette erreur est faible, de l'ordre de 2×10^{-4} μ l. La sensibilité est de 4 à 10×10^{-3} μ l par heure pour des ludions de volume moyen de 4 à 10 μ l. Pour des conditions standards de température et de salinité, les valeurs moyennes de consommation d'oxygène obtenues avec des ludions de 5 à 10 μ l, seront comprises entre 5 et 16×10^{-3} μ l O_2 par heure et par animal (pour un poids frais moyen de 10 μ g). Les intensités respiratoires spécifiques seront comprises entre 500 et 1600 μ l par gramme heure.

2. Evolution de la consommation d'oxygène au cours **du** temps.

Afin de vérifier l'existence éventuelle de rythmes respiratoires liés au temps, pour des conditions de température et de salinité constantes, les consommations d'oxygène de quatre individus ont été mesurées au cours de 2 cycles de 6 heures (7 à 13 h et 17 à 23 h : Fig. 11). Dans les limites de fidélité de l'appareillage utilisé (2×10^{-4} μ l), aucun rythme respiratoire lié au temps n'a été décelé. Si un tel rythme existe, son amplitude ne dépasse pas $2,5$ p. 100 des valeurs moyennes de consommation d'oxygène.

3. Consommation d'oxygène en fonction de la taille.

L'intensité respiratoire est d'autant plus élevée que l'animal est plus petit. Cette relation a été vérifiée chez des Oligochètes méiobenthiques de même espèce mais de tailles différentes (Lasserre, 1970, 1971 a). Il s'agit là d'une propriété généralisable à l'ensemble de la méiofaune. Ses conséquences sont importantes dans l'estimation relative des activités métaboliques méiobenthiques (Lasserre, 1975 b).

4. Activité bactérienne.

En effectuant, à l'aide de ludions, les premières déterminations de consommation d'oxygène, j'avais été surpris par la grande variabilité des mesures individuelles obtenues pour des spécimens de taille voisine. Après un « nettoyage » préalable des animaux dans un milieu filtré et contenant un mélange antibiotique (voir méthodes), la reproductibilité des résultats est devenue excellente, l'activité bactérienne étant neutralisée ou du moins normalisée.

5. Consommation d'oxygène liée à l'activité.

Une source importante de variation dans les mesures de respiration est liée à l'activité propre des organismes. Le travail musculaire introduit une composante non négligeable dans toute mesure

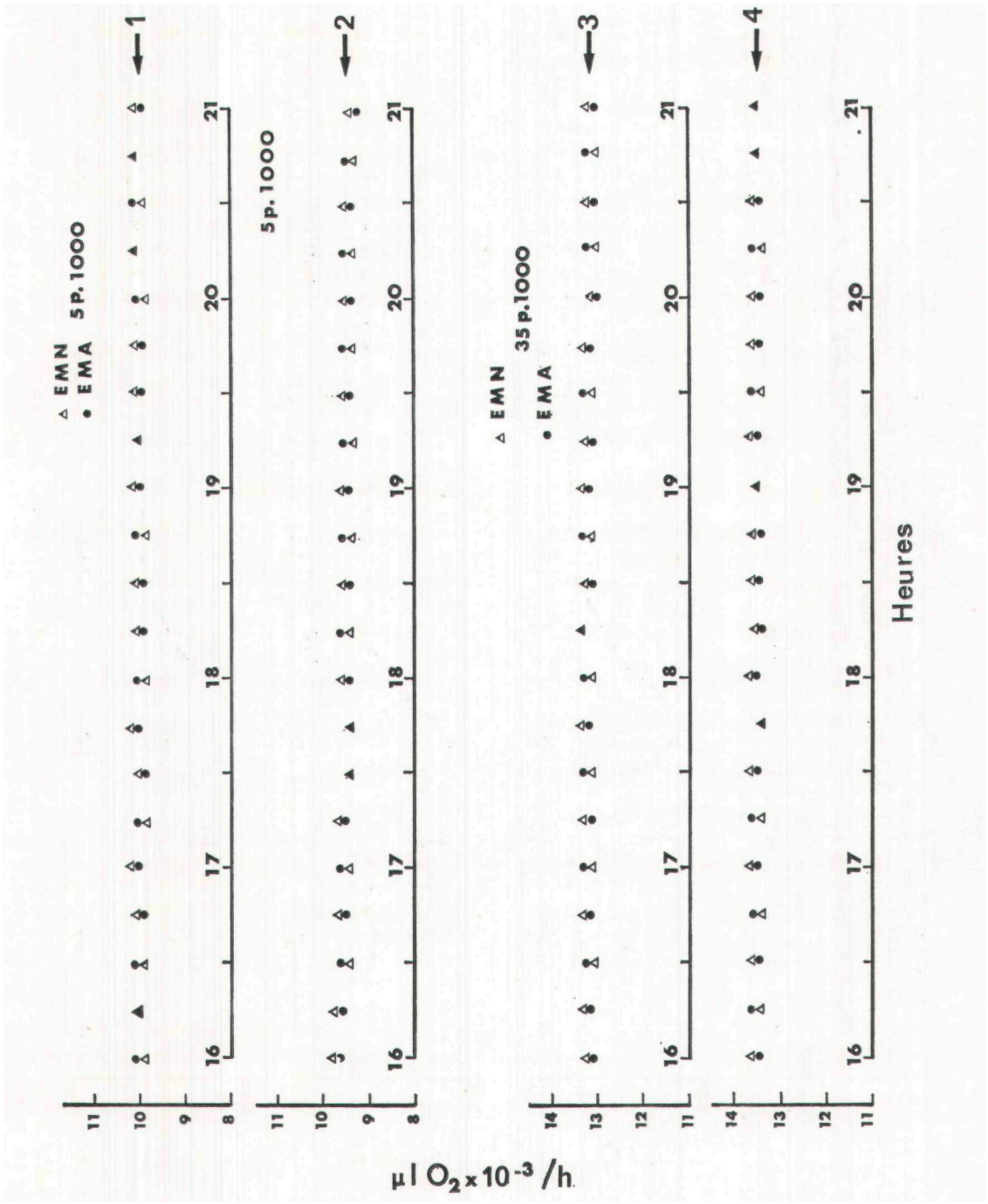


FIG. 12

Comparaison des consommations d'oxygène en fonction du temps. Les courbes 1 à 4 représentent l'évolution de la consommation d' O_2 mesurée chez quatre individus isolés pour des intervalles de temps successifs de 15 minutes et pour des eaux de mer naturelles et artificielles à 5 et 35 p. 1000. Température $19^\circ\text{C} \pm 0,01$.

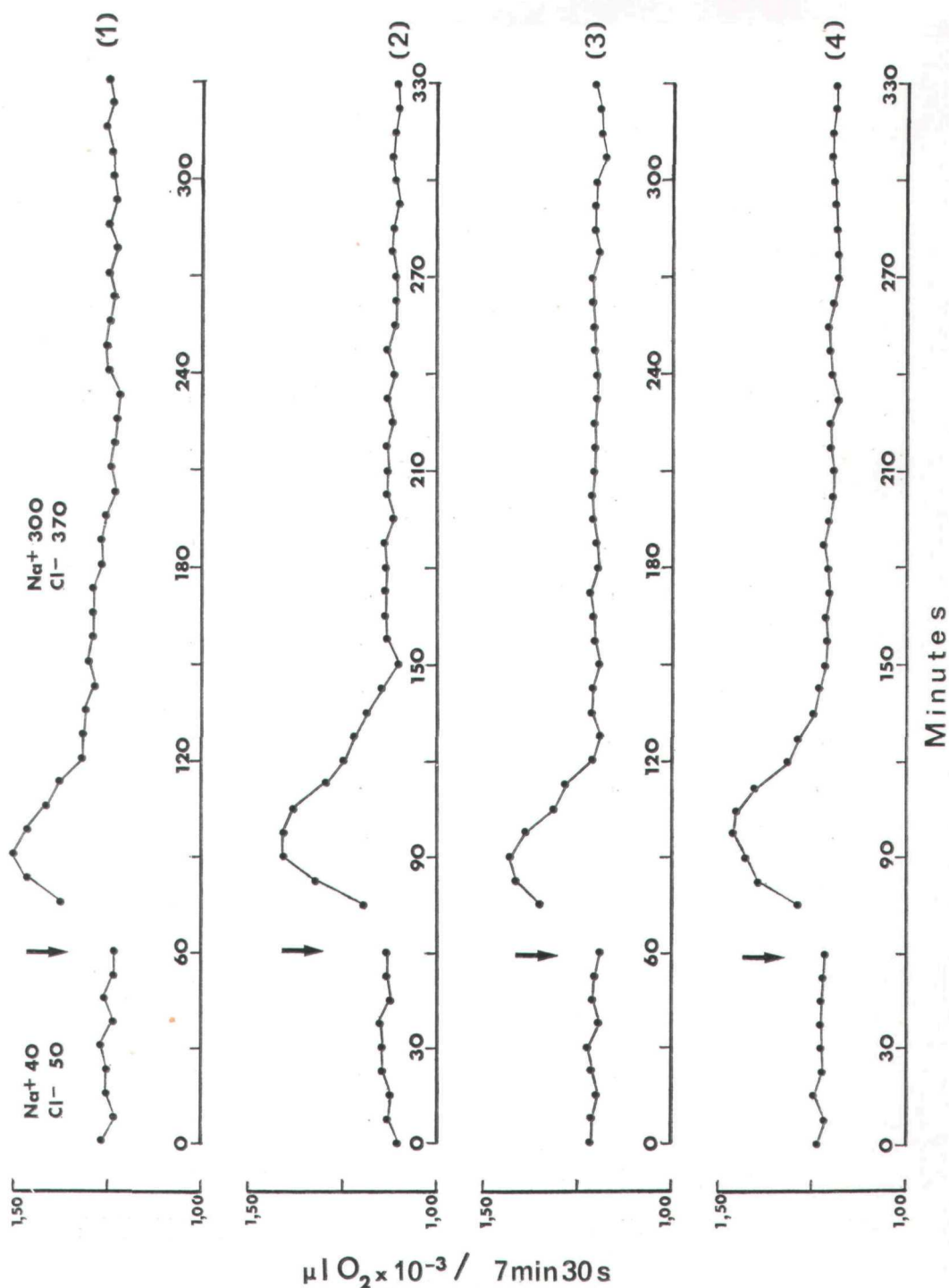


FIG. 13

Consommation d'oxygène en fonction du temps et des variations rapides de salinité.

Dans cette figure et les suivantes, les courbes représentent l'évolution de la consommation d'oxygène, pour des intervalles de temps successifs de 7 min 30 s. Chaque modification de milieu est indiquée par une flèche verticale. Le délai de 15 minutes, observé après une modification du milieu, correspond au temps nécessaire pour une rééquilibration des pressions. Température $19^\circ\text{C} \pm 0,01$. Milieux : EMA 3 p. 1000 (Na^+ 40 mEq/l, Cl^- 50 mEq/l), EMA 22 p. 1000 (Na^+ 300 mEq/l, Cl^- 370 mEq/l).

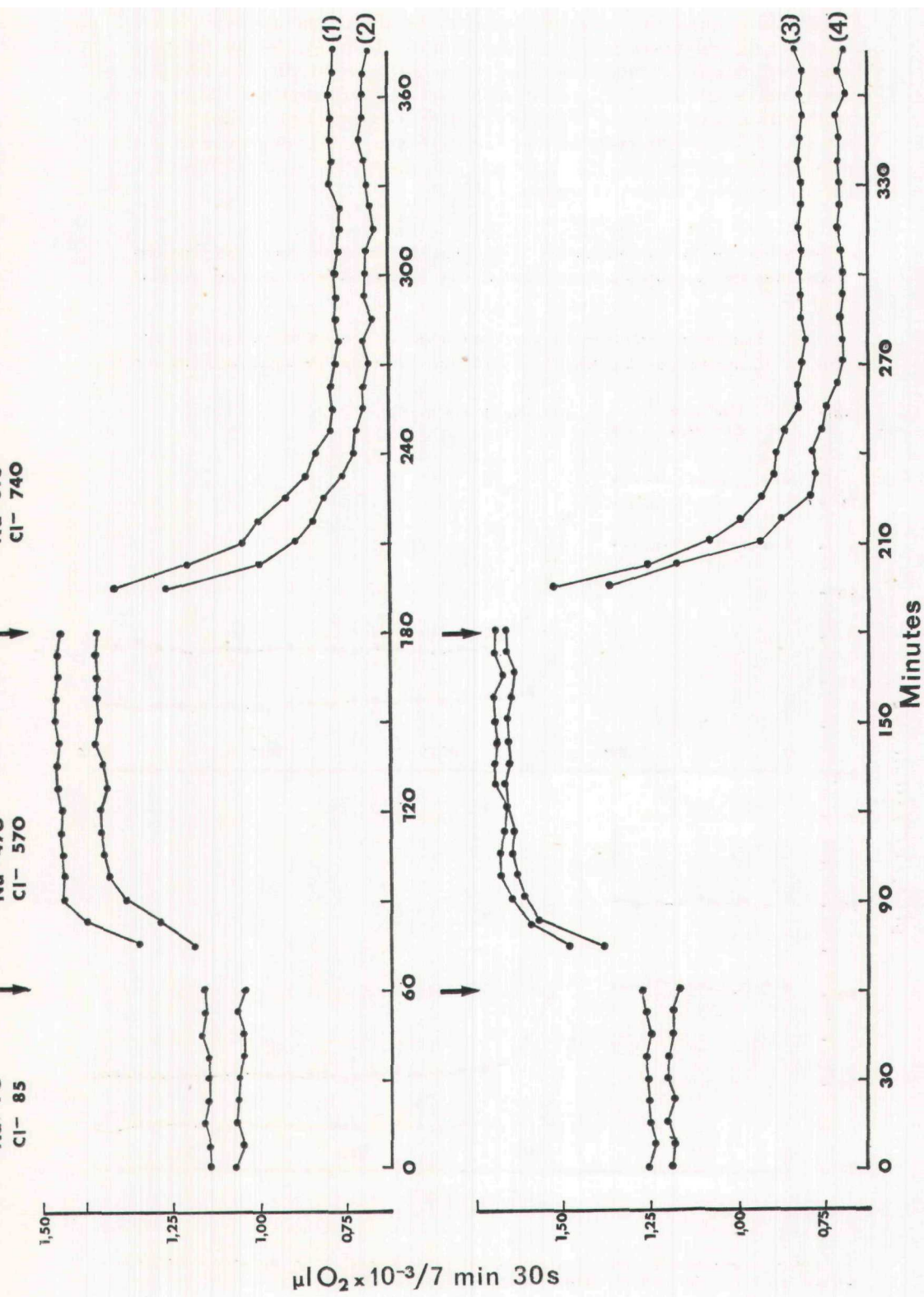


Fig. 14

Effet d'une salinité normale : EMA 35 p. 1000 (Na⁺ 470 mEq/l, Cl⁻ 570 mEq/l), puis hypertonique : EMA 45 p. 1000 (Na⁺ 618 mEq/l, Cl⁻ 740 mEq/l). Même légende que Fig. 13.

d'intensité respiratoire, pouvant masquer le niveau métabolique basai et rendre difficilement interprétables le sens et l'intensité des fluctuations respiratoires. Chez *Marionina achaeta*, la consommation horaire d'oxygène se maintient à une intensité élevée et constante. Celle-ci est représentée, pour plus de 70 p. 100, par une composante métabolique non liée à l'activité musculaire (locomotion). Les conséquences de cette particularité ont été signalées et discutées pour différentes espèces méiobenthiques (Lasserre, 1975 b).

6. Evolution de la consommation d'oxygène en fonction des modifications externes de la pression osmotique et des concentrations ioniques en Na^+ et Cl^- .

Les analyses statistiques des mesures de consommation d'oxygène en fonction de la salinité du milieu externe et compte tenu de

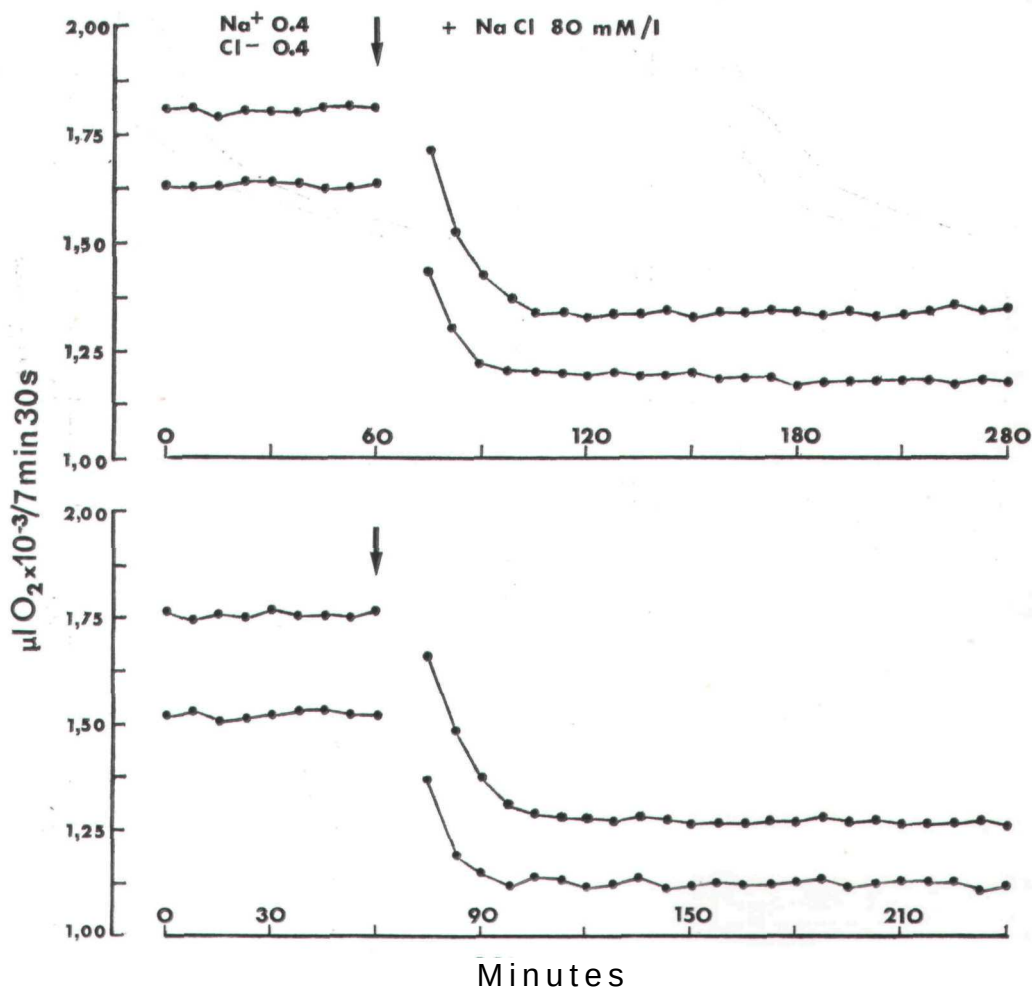


FIG. 15

Effets comparés de l'eau douce (Na^+ et Cl^- 0,4 mEq/l) et du même milieu enrichi en NaCl (80 mM/l). Même légende que Fig. 13.

la régression métabolisme-poids ont montré l'existence d'un « plateau adaptatif » pour des limites de salinité comprises entre 25 et 3 p. 1000 (Lasserre, 1969, 1970, 1971 a). L'intensité respiratoire, non modifiée dans cet intervalle de salinité, augmente très significativement dans des milieux hypotoniques (eau douce, eau de mer de salinité inférieure à 1 p. 1000) ou, au contraire, concentrés (eau de mer 30 et 35 p. 1000). L'eau de mer hypertonique (salinité 45 p. 1000) provoque une diminution de la respiration. Les résultats obtenus pour de nouvelles séries expérimentales sont exposés dans les lignes qui suivent. Toutes les mesures de respiration sont réalisées sur des animaux isolés, immatures et de tailles comprises entre 1,8 et 2,4 mm. L'utilisation d'une technique spéciale pour le remplissage des ludions (voir méthodes) permet de modifier la composition ionique du milieu, sans interrompre la mesure et de suivre ainsi, sur un même individu, des variations relatives, même rapides, du rythme respiratoire.

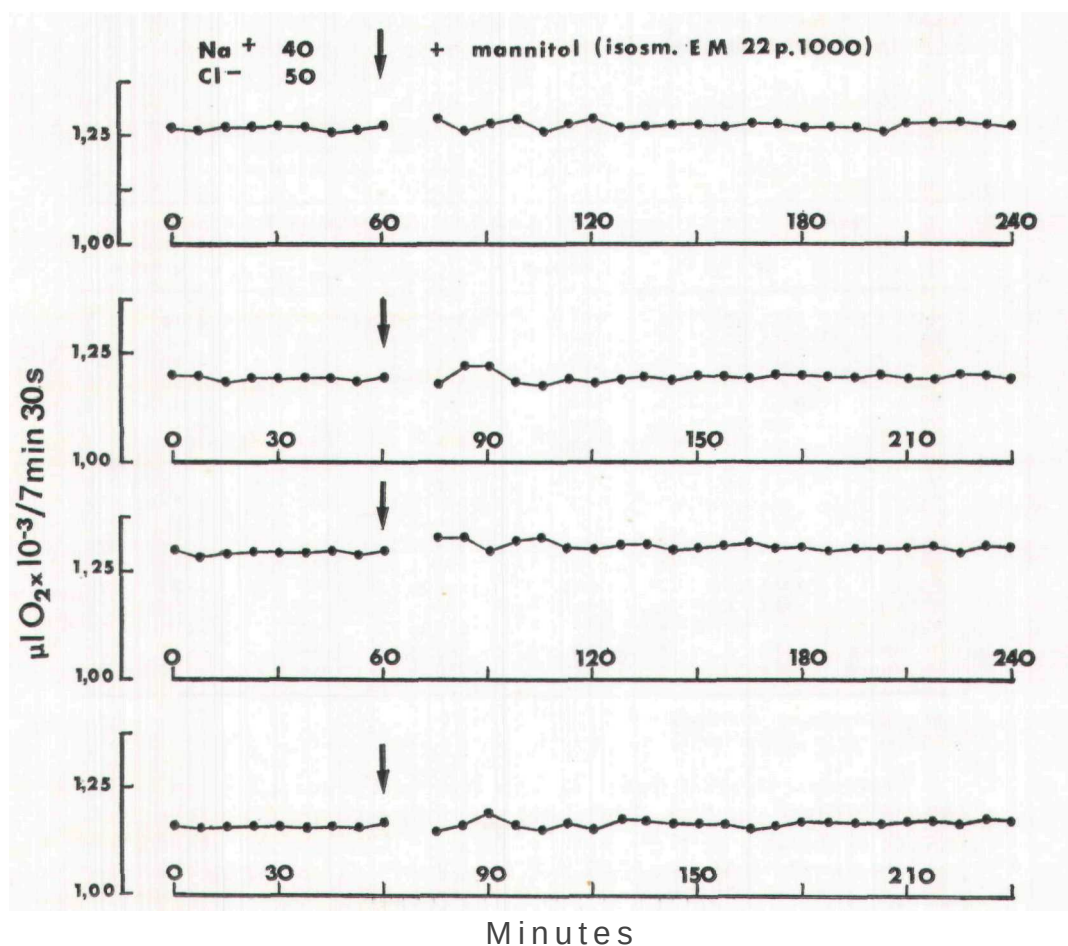


FIG. 16

Effet d'une augmentation de la pression osmotique.

Addition à une EMA 3 p. 1000 (Na^+ 40 mEq/l, Cl^- 50 mEq/l), d'une solution concentrée de mannitol (milieu isosmotique à EMA 22 p. 1000) sans changer la concentration en ions Na^+ et Cl^- . Même légende que Fig. 13.

Intensités respiratoires comparées en eau de mer naturelle et en eau de mer artificielle (Fig. 12).

Les consommations d'oxygène mesurées dans des eaux de mer artificielles de 5 à 22 p. 1000, ne sont pas significativement différentes des valeurs obtenues avec des eaux de mer naturelles de même salinité.

Effet des variations rapides de salinité.

Intervalle de salinité 25 - 3 p. 1000 (Fig. 13 et Tableau 2).

L'addition d'ions Na^+ et Cl^- en concentrations finales respectives de 300 et 370 mEq/l à une eau de mer 3 p. 1000, entraîne une augmentation transitoire de l'intensité respiratoire, suivie d'une baisse progressive et d'un retour à la valeur initiale au bout d'une heure environ (Fig. 13). Un tel effet est reproductible dans l'intervalle de salinité 25-3 p. 1000 (Tableau 2). L'augmentation transitoire de l'intensité respiratoire n'est cependant significative que pour une variation minimale en NaCl de 130 mM/l, correspondant à une modification de salinité de 10 p. 1000.

TABLEAU 2

Effet des variations rapides de salinité sur le rythme respiratoire. Les valeurs de consommation d'oxygène sont exprimées en intensités relatives moyennes $\pm$ écart type, par rapport à un niveau de référence 100 p. 100, correspondant à l'intervalle de salinité 3-25 p. 1000. n = nombre de déterminations.

MILIEUX		n	VARIATIONS RELATIVES EN POUR CENT				
I	II		milieu I	milieu II après 30 mn	après 180 mn	variation	
EMA 22	EMA 22	8	100	101 $\pm$ 1,3	99 $\pm$ 1,6	+ 1	- 1
EMA 22	EMA 25	8	100	100 $\pm$ 2,1	102 $\pm$ 3,1	—	+ 2
EMA 22	EMA 30	8	100	128 $\pm$ 3,2	130 $\pm$ 4,0	+ 28	+ 30
EMA 22	EMA 35	8	100	135 $\pm$ 2,2	139 $\pm$ 2,2	+ 35	+ 39
EMA 22	EMA 45	6	100	82 $\pm$ 3,1	65 $\pm$ 1,0	- 18	- 35
EMA 10	EMA 22	8	100	101 $\pm$ 0,8	100 $\pm$ 1,1	+ 1	—
EMA 5	EMA 22	6	100	123 $\pm$ 2,8	102 $\pm$ 1,6	+ 23	+ 2
EMA 3	EMA 3	8	100	100 $\pm$ 1,0	100 $\pm$ 0,8	—	—
EMA 3	EMA 10	6	100	101 $\pm$ 2,1	99 $\pm$ 1,3	+ 1	- 1
EMA 3	EMA 22	8	100	121 $\pm$ 1,8	96 $\pm$ 2,2	+ 21	- 4
EMA 3	EMA 25	8	100	119 $\pm$ 2,7	101 $\pm$ 2,1	+ 19	+ 1
EMA 3	EMA 30	8	100	132 $\pm$ 5,1	128 $\pm$ 3,2	+ 32	+ 28
EMA 3	EMA 35	8	100	134 $\pm$ 2,2	141 $\pm$ 2,6	+ 34	+ 41
EMA 3	EMA 45	8	100	66 $\pm$ 4,6	68 $\pm$ 2,9	- 34	- 32
EMA 0,5	EMA 5	8	128 $\pm$ 4,3	98 $\pm$ 3,5	100	+ 28	- 2
EMA 0,5	EMA 22	8	126 $\pm$ 2,0	111 $\pm$ 4,1	100	+ 26	+ 11
Eau douce	EMA 5	8	133 $\pm$ 3,3	104 $\pm$ 2,8	100	+ 33	+ 4
Eau douce	EMA 22	8	136 $\pm$ 2,6	115 $\pm$ 3,0	100	+ 36	+ 15

Milieux concentrés (Fig. 14 et Tableau 2).

Une concentration finale en ions Na^+ de 470 mEq/l et en Cl^- de 590 mEq/l (salinité 35 p. 1000), entraîne une augmentation très significative et durable de l'intensité respiratoire. Une concentration finale plus élevée (618 mM/l de NaCl soit 45 p. 1000) se traduit au contraire par une baisse rapide et durable de la consommation d'oxygène.

Milieux oligohalins : eau douce, eau de mer 0,5 p. 1000 (Fig. 15, Tableau 2).

La consommation d'oxygène est augmentée de 38 à 40 p. 100 en eau douce (0,35 mEq/l en Na^+ et Cl^-) et en eau de mer 0,5 p. 1000 (Na^+ 5 mEq/l, Cl^- 8 mEq/l) par rapport à une eau de mer 5 p. 1000.

D'après la figure 15, l'augmentation d'intensité respiratoire notée dans la première partie de l'expérience est en effet annulée après addition de NaCl en concentration finale 80 mM/l (correspondant à une eau de mer 5 p. 1000).

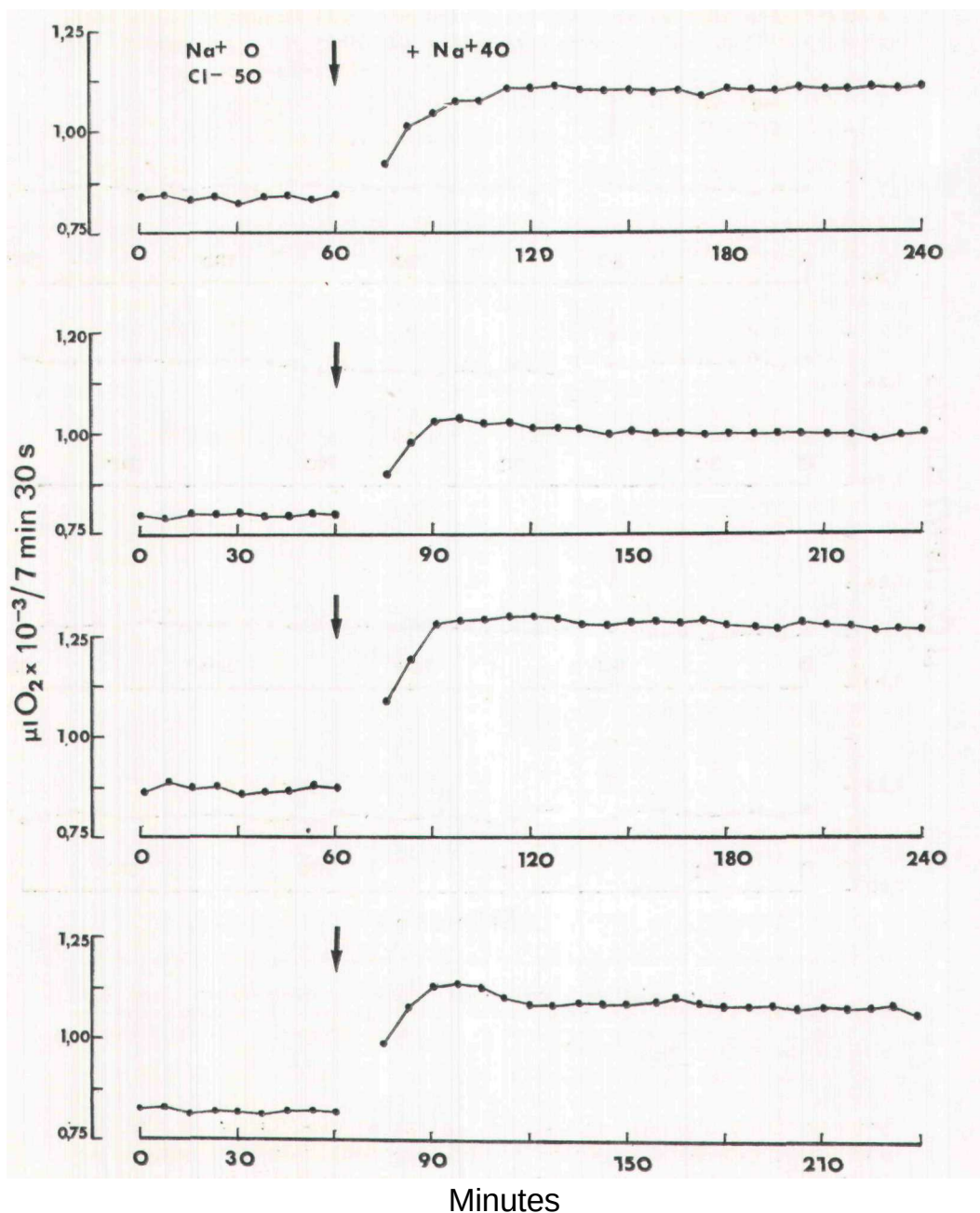


FIG. 17

Première heure : effet d'un milieu sans sodium, isosmotique à une EMA 3 p. 1000. Les ions Na⁺ sont substitués par de la choline (chlorure de choline), ions Cl⁻ 50 mEq/l. Après une heure : addition de 40 mEq/l d'ions Na⁺ associés à du propionate. Même légende que Fig. 13.

Effets comparés de la pression osmotique et des ions Na^+ et Cl^- . Pression osmotique (Fig. 16).

Dans une eau de mer 3 p. 1000 dont la pression osmotique est augmentée par l'addition de mannitol et rendue de ce fait isosmotique à une eau de mer 22 p. 1000, on ne retrouve pas l'augmentation transitoire de l'intensité respiratoire notée au cours des expériences sur

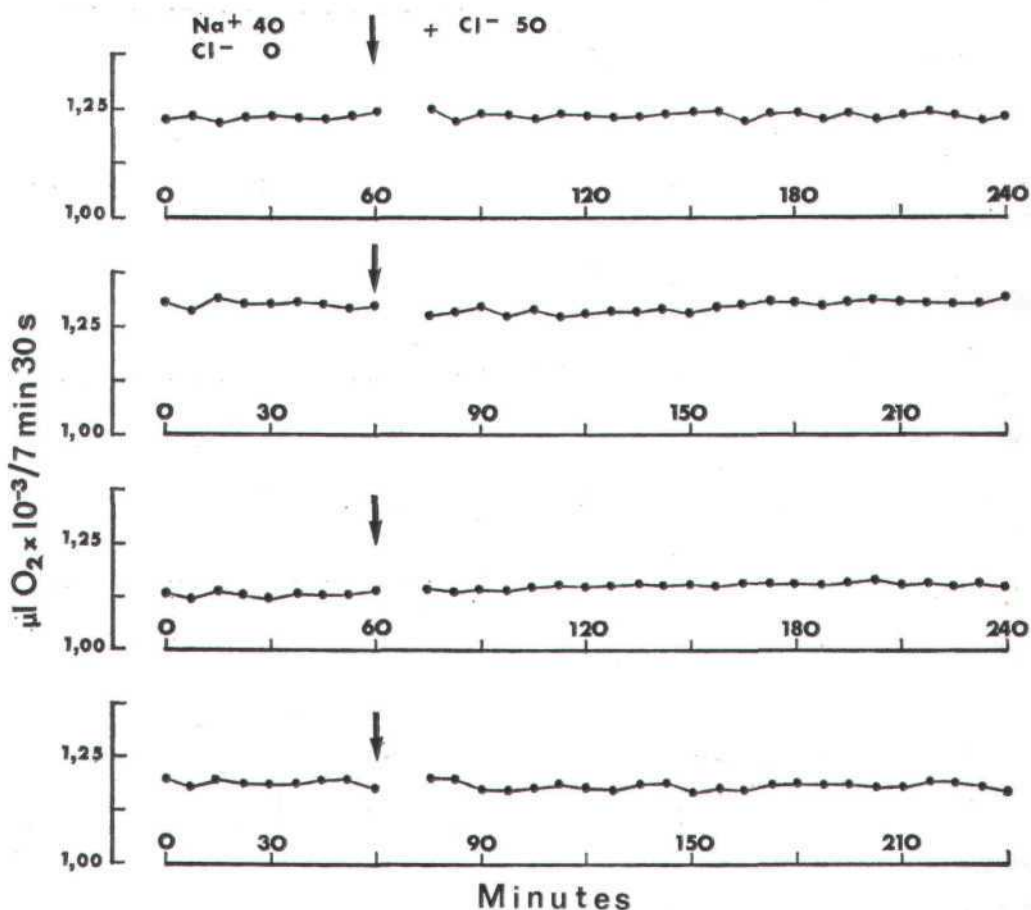


FIG. 18

Première heure : effet d'un milieu sans chlorure, isosmotique à une EMA 3 p. 1000. Les ions Cl^- sont substitués par du propionate (de sodium), ions Na^+ 40 mEq/l. Après une heure : addition de 50 mEq/l d'ions Cl^- , sous la forme de chlorure de choline. Même légende que Fig. 13.

les variations globales de salinité (comparer avec la figure 13). Les variations rapides du rythme respiratoire sont donc provoquées par la modification des concentrations ioniques en NaCl dans le milieu externe et non par de simples variations de la pression osmotique.

Sodium (Fig. 17).

Dans une eau de mer « sans sodium » rendue isosmotique à l'eau de mer 3 p. 1000 par addition de chlorure de choline et contenant

0,6 mEq/l de sodium (sous la forme de NaHCO_3), on observe une consommation d'oxygène très ralentie par rapport à la valeur observée après addition d'ions sodiques, sous la forme de propionate de sodium, en concentration finale 40 mEq/l.

Chlorure (Fig. 18).

L'intensité respiratoire n'est pas modifiée dans une eau de mer « sans chlorure », rendue isosmotique à l'eau de mer 3 p. 1000 (propionate de sodium), par rapport à l'intensité respiratoire observée après addition d'ions Cl^- , sous la forme de chlorure de choline, en concentration finale 50 mEq/l.

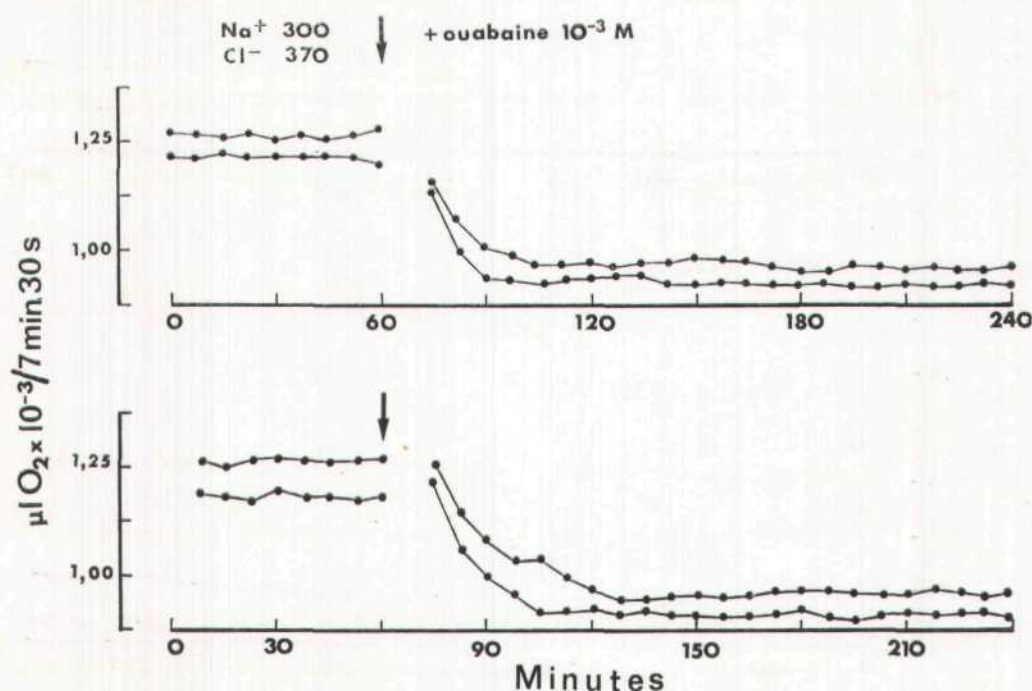


FIG. 19

Effet de l'ouabaine (concentration finale 10^{-3} M), additionnée à une EMA 22 p. 1000 (ions Na^+ 300 mEq/l et Cl^- 370 mEq/l). Même légende que Fig. 13.

Ces expériences montrent clairement que l'augmentation temporaire de l'intensité respiratoire est déterminée par la modification rapide de la concentration ionique du milieu ambiant. La présence de sodium dans ce milieu conditionne une intensité respiratoire élevée.

Action de l'ouabaine (Fig. 19 et 20).

L'addition d'ouabaine en concentration finale 10^{-3} M dans une eau de mer 22 p. 1000 (300 mEq/l d'ions Na^+) provoque une diminution de la consommation d'oxygène de 18 à 20 p. 100 (Fig. 19). L'effet est plus marqué si l'on part d'une eau de mer 35 p. 1000 (Fig. 20). En eau douce et en eau de mer très diluée, une inhibition respiratoire est également notée.

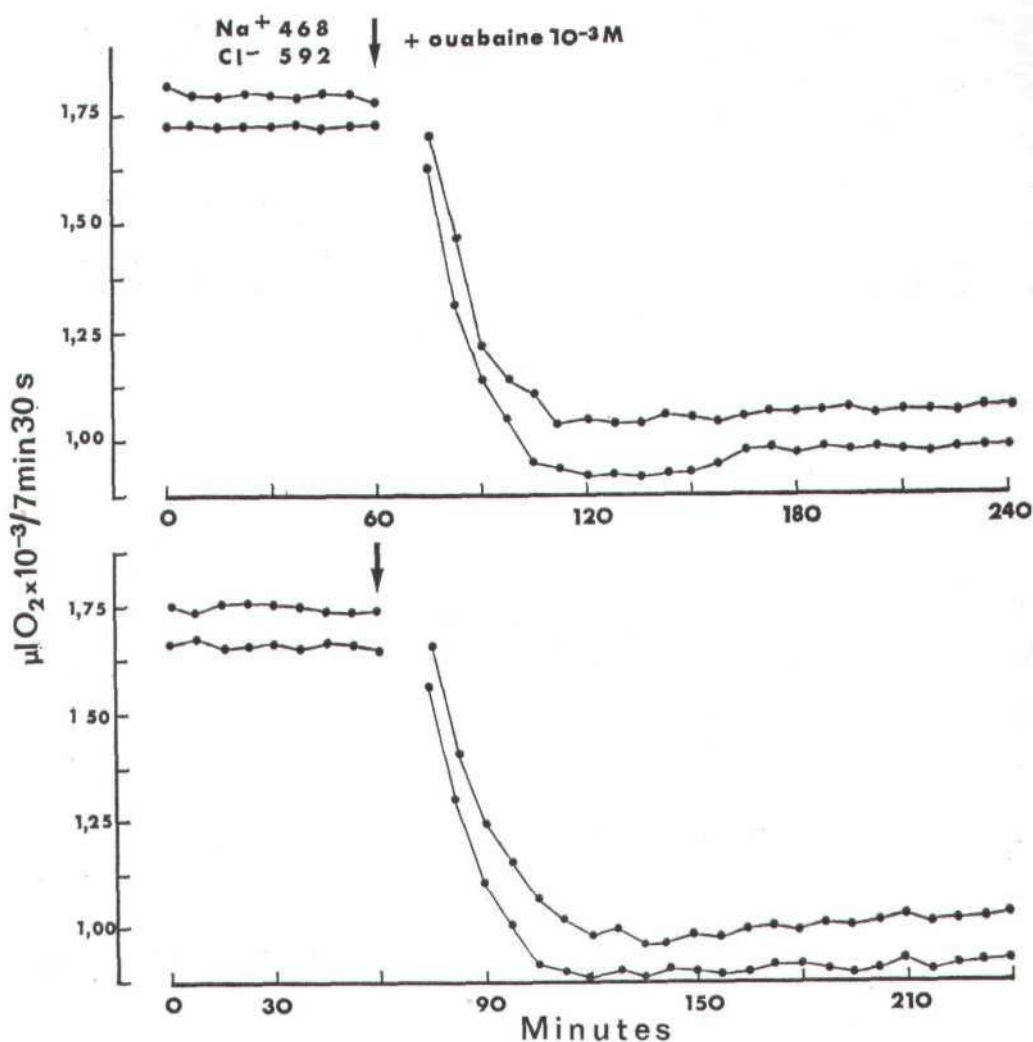


FIG. 20

Effet de l'ouabaine (concentration finale 10⁻³ M), additionnée à une EMA 35 p. 1000 (ions Na⁺ 468 mEq/l et Cl⁻ 592 mEq/l). Même légende que Fig. 13.

DISCUSSION

Marionina achaeta Lasserre 1964 est capable de supporter des fluctuations rapides de salinité et de s'y adapter physiologiquement. Du fait de la très petite taille de cet Oligochète méiobenthique, il n'a pas été possible d'aborder par des techniques classiques l'étude des modifications osmotiques et ioniques du milieu intérieur. Cette approche nécessite l'utilisation de microméthodes suffisamment reproductibles et fait l'objet d'un travail en cours. Certains résultats préliminaires indiquent que le milieu intérieur de *M. achaeta* est

hyper-osmotique au milieu extérieur composé d'eaux de mer à 25, 10, 3 et 0,5 p. 1000. L'espèce est osmoconforme dans des salinités plus élevées et pratiquement aussi en eau douce.

I. Régulation de volume

Un choc hypo- ou hyper-osmotique conduit à d'importantes modifications volumiques suivies de régulations de volume de deux types.

1. *Régulations volumiques rapides* : elles apparaissent après un choc hypo-osmotique, et sont induites par des modifications de la pression osmotique ; elles nécessitent la présence de sodium dans le milieu externe. Les régulations de volume faisant suite à des chocs hypo-osmotiques dans le domaine de salinité 25 - 3 p. 1000 sont complètes pour des délais relativement très courts (6 à 8 h). Un choc plus important (22 - 0,5 p. 1000 ou 22 p. 1000 - eau douce) donne lieu à des régulations plus lentes (12 à 14 h) et incomplètes en eau douce (Fig. 4 et 5). Les régulations volumiques rapides sont inhibées par la présence d'ouabaine dans le milieu externe (Fig. 10). Elles paraissent donc en relation avec des mécanismes osmorégulateurs faisant intervenir un transport actif de sodium.

2. *Régulations volumiques différées* : consécutives à des chocs hyper-osmotiques, elles apparaissent après des délais beaucoup plus longs (5 à 15 jours, Fig. 4 et 5).

II. Métabolisme

Les mesures de consommation d'oxygène effectuées chez des individus intacts montrent l'existence de rythmes respiratoires liés énergétiquement à des mécanismes osmorégulateurs. Les ions Na^+ ont une action stimulante non équivoque sur la consommation d'oxygène. Cette action est momentanée pour un choc osmotique compris dans l'intervalle de salinité 25 - 3 p. 1000, métaboliquement compensé (plateau d'adaptation : Lasserre, 1969, 1970). L'augmentation de la courbe respiratoire est suivie, au bout d'une heure, d'une diminution puis d'une stabilisation au niveau initial (Fig. 13 et Tableau 2). Les augmentations d'intensités respiratoires dues à des chocs hyper- ou hypo-osmotiques plus importants (eau douce, eaux de mer 0,5 et 1 p. 1000, 30 et 35 p. 1000) ne sont plus compensées (Tableau 2). Dans une eau de mer synthétique sans sodium (Fig. 17), l'intensité respiratoire diminue de 25 à 30 p. 100 environ, par rapport au niveau de référence 100 p. 100 (Lasserre, 1969). L'eau déionisée, les milieux très hypertoniques (45 p. 1000, Fig. 14), entraînent également une baisse très nette de la consommation d'oxygène.

L'ensemble de ces résultats suggère une relation énergétique entre le métabolisme respiratoire et un mécanisme de transport actif du sodium. L'effet inhibiteur très net de l'ouabaine vient renforcer cette hypothèse (Fig. 19 et 20 et Lasserre, 1969). Les modifications d'inten-

sités respiratoires sont des réponses à court terme concordant avec les ajustements volumiques rapides. Ces relations seront précisées ultérieurement. D'autre part, l'inanition, même prolongée (2 mois), n'altère pas les réponses régulatrices des animaux. Ces aspects et ceux liés à la maturité génitale feront l'objet d'une prochaine publication.

Les corrélations entre rythme respiratoire et adaptation osmotique ne sont pas toujours aussi cohérentes que chez *M. achaeta*. Le sujet a d'ailleurs fait l'objet d'une longue controverse. Les nombreuses publications traitant de mesures de respiration en fonction de la salinité ambiante donnent des résultats très variables suivant les Invertébrés étudiés. Une hypothèse avancée par Schlieper (1929) stipulait que le travail de régulation hyperosmotique assuré par des animaux euryhalins colonisant des milieux dilués, se traduisait par un pourcentage non négligeable de la consommation d'oxygène globale. Pour Potts et Parry (1964), cette hypothèse n'est pas valable. La critique la plus sérieuse reposait sur une argumentation thermodynamique. Potts (1954) montrait par cette approche que le travail requis pour un transport actif d'ions entraîne des modifications minimales de la consommation d'oxygène, les variations importantes notées par les auteurs étant probablement dues à d'autres causes : activité musculaire accrue, par exemple. De telles variations d'activité ne semblent pas toujours évidentes ; d'autre part, comme le font remarquer Kirschner (1961, 1967) et Croghan (1961), l'estimation thermodynamique dépend uniquement d'un état initial et d'un état final dans le système considéré. Le travail osmotique ainsi calculé correspond à la mobilisation d'une fourniture d'énergie minimale. L'énergie réellement dépensée est en fait fonction de l'efficacité des mécanismes iono-régulateurs (relation stochiométrique liant les molécules d'oxygène au nombre d'ions transportés). Quelle que soit la nature du système de transport, l'énergie requise sera liée à l'intensité du transport de l'ion considéré. Une estimation valable de l'énergie dépensée doit donc tenir compte de l'efficacité des mécanismes de transport. Shaw (1959) et Kirschner (1967) ont calculé que la régulation du sodium chez *Carcinus maenas* (eau de mer 40 p. 100) et chez *Anodonta cygnea* (eau douce) pouvait mobiliser respectivement 7 et 20 p. 100 de la consommation d'oxygène totale (voir également Burton, 1973).

Il convient cependant d'être prudent dans une interprétation trop simple d'une réponse respiratoire à un quelconque changement de salinité. Des modifications de volume peuvent entraîner des altérations ioniques importantes du milieu intérieur et modifier, de façon marquée, d'autres fonctions métaboliques, notamment les métabolismes du glucose et de certains acides aminés.

III. Mécanismes de régulation ionique

Les variations de l'intensité respiratoire mises en évidence chez *Marionina achaeta* sont des réponses à court terme (1 à 7 heures) en concordance avec des régulations de volume et d'ions. Une analyse complète de ces processus osmorégulateurs ne peut être encore faite, mais il est clair que *M. achaeta* utilise un surplus important d'énergie,

d'origine respiratoire, pour le fonctionnement accru de mécanismes actifs d'iono-régulation, dans des milieux extrêmes, soit très dilués (eau douce, 0,5 et 1 p. 1000), soit concentrés (30 et 35 p. 1000). La possibilité de maintenir un état d'équilibre entre des limites de salinité 25-3 p. 1000, correspondant à un environnement naturel méso-oligohalin (classification de Venise, 1958), nécessite également une demande énergétique non négligeable (20 à 30 p. 100 de la consommation d'oxygène totale). L'eau de mer 30 à 35 p. 1000 et l'eau douce représentent des limites extrêmes de répartition écologique (Lasserre, 1971 a, b) pour lesquelles les mécanismes de transport actif pourraient être saturés ou, au contraire, non activés.

Si l'on admet, chez *M. achaeta*, le principe d'une régulation hyper-osmotique entre 3 et 20 ou 25 p. 1000, il faut supposer l'existence d'un ou plusieurs mécanismes d'absorption active des ions Na^+ et Cl^- . Les travaux sur l'osmorégulation des Polychètes tendent à montrer que les possibilités de régulation ionique sont très limitées dans des salinités supérieures à 10 p. 1000 (Oglesby, 1969). Mais la situation est probablement différente chez les Oligochètes. Les lombriciens terrestres résistent à des déshydratations considérables et peuvent s'accommoder d'un degré élevé d'hydratation (Maluf, 1940 ; Bahl, 1947 ; Ramsay, 1949). Aucune régulation de volume, au sens strict, n'a été décrite mais il ressort des travaux de Ramsay (1949) et de Kamemoto (1962, 1964) que *Lumbricus terrestris* assure une régulation hyper-osmotique jusqu'à une concentration externe de 100 mM en NaCl. Ce sont les ions Na^+ et Cl^- qui contribuent, pour l'essentiel, au réajustement de la pression osmotique interne. Au-delà de cette limite, les pressions osmotiques interne et externe s'égalisent, l'espèce devient osmoconforme. Un mécanisme de réabsorption active du sodium, assortie d'une diffusion passive des ions Cl^- , a été mis en évidence chez *L. terrestris*, au niveau du tubule proximal de la néphridie (Boroffka, 1965). Cette activité pourrait être complétée par une absorption ionique active au niveau des téguments. Tercafs (1965) a pu isoler, chez la même espèce, des fragments d'épiderme et il a pu étudier, par la méthode d'Ussing, certains phénomènes de perméabilité. Il a montré une perméabilité passive aux ions Na^+ , K^+ et Cl^- au niveau de la face externe et un transport actif de sodium assuré du compartiment cellulaire (cellules épidermiques) vers le milieu interne. Ce dernier est accompagné d'un transport actif de potassium du milieu interne vers le compartiment cellulaire. Les ions Cl^- diffusent passivement du milieu externe vers le milieu interne : l'hypothèse d'un transport actif d'ions Cl^- au niveau de l'épiderme de *L. terrestris* (Maluf, 1940 ; Ramsay, 1949), ne se trouverait donc pas confirmée. La présence de tels mécanismes de transport actif est très vraisemblable chez les Oligochètes marins. Notons au passage qu'il serait intéressant de reprendre des études analogues chez des Megascolecidae macrobenthiques du littoral marin (*Pontodrilus*, *Plutellus*).

Si l'on admet la présence de mécanismes d'absorption active de sodium chez *Marionina achaeta*, comme c'est le cas chez *Lumbricus terrestris*, mais efficaces pour des concentrations ioniques externes élevées, on peut émettre l'hypothèse suivante : dans un milieu faiblement ionisé, l'élimination d'eau se ferait sous la forme d'une urine hypotonique produite par les néphridies et serait accompagnée d'une

réabsorption active de sodium. Ce dernier phénomène serait suivi d'une régulation de volume après une hydratation initiale du milieu intérieur. Dans des milieux plus ionisés (eau de mer 50 p. 100), les mécanismes d'absorption active d'ions Na^+ pourraient être conjugués avec des variations de perméabilité des téguments. Dans ces phénomènes, l'activité néphridienne serait complétée par une absorption active de sodium au niveau de la peau et peut-être aussi de l'épithélium intestinal.

De volumineuses paires de néphridies occupent tous les segments postclitelliens. Leur ultrastructure traduit une fonction excrétrice. Un réseau intriqué de doubles membranes en continuité avec la membrane cellulaire basale découpe le cytoplasme en compartiments contenant de nombreuses mitochondries. La densité élevée des mitochondries, en étroite association avec les membranes, indique une capacité énergétique particulièrement importante (Lasserre, en préparation).

Conclusion

Marionina achaeta maintient un état d'équilibre pour un domaine de salinité correspondant à un environnement estuarien méso-oligo-halin. Cette propriété sous-entend la participation de mécanismes actifs d'osmorégulation. La demande énergétique pour de tels mécanismes n'est pas négligeable, elle est modulée entre 25 et 3 p. 1000, limites entre lesquelles la consommation d'oxygène ne varie pas significativement. Les régulations de volume mises en évidence chez *M. achaeta* sont associées à des transports ioniques assurant une régulation probablement hyperosmotique et pouvant s'ajuster très rapidement au régime mixohalin.

Summary

Metabolism and osmoregulation of a meiobenthic oligochaete.

The widely distributed enchytraeid oligochaete, *Marionina achaeta* Lasserre, exhibits great ability to withstand wide fluctuations of salinity. In previous papers, it has been established that the overall consumption of oxygen was statistically constant over a range of 25 to 3 p. 1000, which corresponds to natural conditions. At salinities inferior to 1 p. 1000 and superior to 30 p. 1000, oxygen consumption was considerably elevated, indicating metabolic disturbances. The present study confirms these findings and assesses more intimately the mechanisms of osmoregulation. The possible effects of osmotically induced changes in body volume and in respiration rate, have been studied in natural and artificial media of widely osmotic and ionic composition. *M. achaeta* clearly shows volume regulation. Stimulating effect of the sodium in volume regulation and in respiration rates, and inhibitory action of ouabain in these sodium-activated processes, suggest active transport of sodium, very probably involved in a hyperosmotic regulation mechanism. It is conceivable that nephridia and epidermal cells would exhibit a major role in these phenomena. The time course of the volume and metabolic compensations for salinity is immediate or, at least, very rapid, and can be interpreted as a very efficient strategy of ecophysiological adaptation displayed by this meiobenthic species to succeed in estuarine habitats.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BAHL, K.N., 1947. — Excretion in the Oligochaeta. *Biol. Rev.*, 22, pp. 107-147.
- BOHOFFKA, i., 1965. — Elektolyttransport im nephridium von *Lumbricus terrestris*. *Z. Vergleich. Physiol.*, 51, pp. 25-48.
- BURTON, R.F., 1973. — The significance of ionic concentrations in the internal media of animals. *Biol. Rev.*, 48, pp. 195-231.
- CLASSIFICATION DE VENISE, 1958. — The Venice system for the classification of marine waters according to salinity. *Oikos*, 9, pp. 311-312.
- CROGHAN, P.C., 1961. — Competition and mechanisms of osmotic adaptation. *Sump. Soc. Exper. Biol.*, 15, pp. 156-167.
- HOLTER, H., 1943. — Technique of the Cartesian diver. *C.R. Trav. Lab. Carlsberg, sér. chimie*, 24, pp. 399-478.
- HULINGS, N.C. et GRAY, j.s., 1971. — A Manual for the Study of Meiofauna. *Smithsonian Contr. Zool.*, 78, 83 pp.
- KAMEMOTO, F.I., 1964. — The influence of the brain on osmotic and ionic regulation in earthworms. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 4, pp. 420-426.
- KAMEMOTO, F.I., SPALDING, A.E. et KEISTER, s.M., 1962. — Ionic balance in blood and coelomic fluid of earthworms. *Biol. Bull.*, 122, pp. 228-231.
- KIRSCHNEH, L.B., 1961. — Thermodynamics and osmoregulation. *Nature*, London, 191, pp. 815-816.
- KIRSCHNBR, L.B., 1967. — Comparative physiology: invertebrate excretory organs. *Ann. Rev. Physiol.*, 29, pp. 169-196.
- LASSERRE, P., 1964. — Note sur quelques Oligochètes Enchytraeidae, présents dans les plages du bassin d'Arcachon. *P.V. Soc. Linn. Bordeaux*, 101, pp. 1-5.
- LASSERRE, P., 1966. — Oligochètes marins des côtes de France. I. Bassin d'Arcachon : Systématique. *Cah. Biol. Mar.*, 7, pp. 295-317.
- LASSERRE, P., 1967. — Oligochètes marins des côtes de France. II. Roscoff, Penpoull, étangs saumâtres de Concarneau : Systématique, écologie. *Cah. Biol. Mar.*, 8, pp. 273-293.
- LASSERRE, p., 1969. — Relations énergétiques entre le métabolisme respiratoire et la régulation ionique chez une Annelide Oligochète euryhaline. *C.R. Acad. Se. Paris*, 268, pp. 1541-1544.
- LASSERRE, p., 1970. — Action des variations de salinité sur le métabolisme respiratoire d'Oligochètes euryhalins du genre *Marionina* Michaelsen. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 4, pp. 150-155.
- LASSERRE, P., 1971 a. — Données écophysiologiques sur la répartition des Oligochètes marins méiobenthiques. *Vie Milieu*, 22, pp. 523-540.
- LASSERRE, P., 1971b. — Oligochaeta from the marine meiobenthos: taxonomy, ecology. *Smithsonian Contr. Zool.*, 76, pp. 71-86.
- LASSERRE, p., 1971 c. — The marine Enchytraeidae (Annelida, Oligochaeta) of the eastern coast of North America with notes on their geographical distribution and habitat. *Biol. Bull.*, 140, pp. 440-460.
- LASSERRE, p., 1975 a. — Clitellata, pp. 215-275. In: Giese A.C. et Pearse J.S.P. (edit.). «Reproduction of Marine Invertebrates». Vol. III: Annelids and Echiurians. Academic Press, New York et Londres.
- LASSERRE, p., 1975b. — Metabolic activities of benthic microfauna and meiofauna: Recent advances and review of suitable methods of analysis. In McCave I.N. (éd.). «The Benthic Boundary Layer». Plenum Press. (Sous presse.)
- LASSERRE, P. et RENAUD-MORNANT, J., 1973. — Resistance and respiratory physiology of intertidal meiofauna to oxygen-deficiency. *Neth. J. Sea Res.*, 7, pp. 290-302.
- LINDERSTRØM-LANG, K., 1943. — On the theory of the Cartesian diver micro-respirometer. *C.R. Trav. Lab. Carlsberg, sér. chimie*, 24, pp. 333-398.
- MALUF, N.S.R., 1940. — Osmo- and volume regulation in the earthworm with special reference to the alimentary tract. *J. cell. comp. Physiol.*, 16, pp. 175-187.
- OGLESBY, L.C., 1969. — Inorganic components and metabolism; ionic and osmotic regulation: Annelida, Sipuncula, and Echiura, pp. 211-310. In Florkin M. et Scheer B.T. (édit.). «Chemical Zoology», 4. Academic Press, New York et Londres.

- POTTS, W.T.W., 1954. — The energetics of osmotic regulation in brackish and fresh-water animals. *J. exp. Biol.*, 31, pp. 618-630.
- POTTS, W.T.W. et PARRY, G., 1964. — Osmotic and ionic regulation in animals. Pergamon Press, Oxford.
- RAMSAY, J.A., 1949. — The osmotic relations in the earthworm. *J. exp. Biol.*, 26, pp. 46-56.
- SCHLIEPER, C., 1929. — Über die Einwirkung niederer Salzkonzentrationen auf marine Organismen. *Z. vergl. Physiol.*, 9, pp. 478-514.
- SHAW, J., 1959. — Salt and water balance in the East African fresh-water crab, *Potamon niloticus* (M.-Edw.). *J. exp. Biol.*, 36, pp. 157-176.
- TERCAFS, R.R., 1965. — Phénomènes de perméabilité au niveau de la peau de *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta). Variations des caractères de perméabilité en fonction des concentrations ioniques. *Acta Physiol. Latino Am.*, 15, pp. 206-214.