

VIE ET MILIEU

Bulletin du Laboratoire Arago

Université de Paris - Biologie Marine - Banyuls-sur-Mer

Périodique d'Ecologie générale

Tome XIV - 1963 - Fasc. 1



HERMANN

115, Bd St-Germain, Paris VI.

VIE ET MILIEU

BULLETIN DU LABORATOIRE ARAGO

UNIVERSITÉ DE PARIS

Vie et Milieu paraît par fascicules trimestriels. Chaque volume, comprenant 4 fascicules, contient 1 000 pages environ.

Les manuscrits sont reçus par M. G. PETIT, Directeur de la publication, ou par M^{me} N. COINEAU, secrétaire de rédaction (Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer, Pyrénées-Orientales).

Les manuscrits, dactylographiés à double interligne avec marge, seront présentés sous leur forme définitive pour l'impression. Les noms scientifiques seront soulignés d'un seul trait, les autres indications typographiques doivent être laissées aux soins de la rédaction. L'emplacement des figures sera indiqué au crayon en marge du texte, les légendes étant groupées sur une feuille séparée. La bibliographie, groupée en fin d'article par ordre alphabétique, sera conforme au modèle ci-dessous :

FOREST, J. and HOLTHUIS, L.-B., 1960. — The occurrence of *Scyllarus pygmaeus* (Bate) in the mediterranean. *Crustaceana*, 1 (2) : 156-163, 1 figure.

PRUVOT, G., 1895a. — Coup d'œil sur la distribution générale des Invertébrés dans la région de Banyuls (golfe du Lion). *Arch. Zool. exp. gén.*, (3) 3 : 629-658, pl. xxx.

Cinquante tirages à part sont offerts aux auteurs. Les exemplaires supplémentaires seront facturés à prix coûtant par l'imprimeur.

Les demandes d'abonnement sont reçues par la librairie Hermann, 115, boulevard Saint-Germain, Paris (6^e), qui assure également la vente par fascicules séparés. Les demandes d'échanges doivent être adressées au Laboratoire Arago.

Abonnement (un an) : France et Etranger 60 F

Prix du fascicule 15 F

Tous livres ou mémoires envoyés à la rédaction seront analysés dans le premier fascicule à paraître.

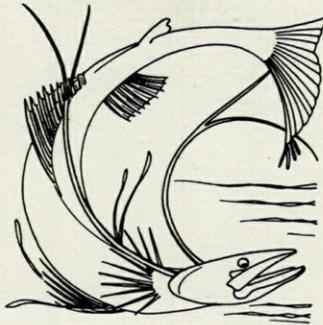
VIE ET MILIEU

Bulletin du Laboratoire Arago

Université de Paris - Biologie Marine - Banyuls-sur-Mer

Périodique d'Ecologie générale

Tome XIV - 1963 - Fasc. 1



HERMANN

115, Bd St-Germain, Paris VI•

SOMMAIRE

J. SOYER. — Contribution à l'étude des effets biologiques du mercure et de l'argent dans l'eau de mer	1
Edmond LAGARDE. — Métabolisme de l'azote minéral en milieu marin	37
Elisabeth SERRA - VON BUDDENBROCK. — Etudes physiologiques et histologiques sur le tégument des Holothuries (<i>Holothuria tubulosa</i>)	55
Odette TUZET et Jean PARIS. — <i>Octavella galangai</i> n. g. n. sp., <i>Demospongiae</i> , de Banyuls-sur-Mer	71
Lucienne FENAUX. — Note préliminaire sur le développement larvaire de <i>Amphiura chiajei</i> (Forbes)	91
Marie-Odile GOBILLARD. — Sur une Grégarine parasite de Copépodes pélagiques	97
Nicole COINEAU. — Etude sur les Amphipodes. II. <i>Salentinella petiti</i> n. sp.	105
T. MOHSEN et M. EMÉRIT. — Contribution à l'étude de l'euryhalinité adaptative chez le Cyprinodonte <i>Poecilidae</i> : <i>Lebistes reticulatus</i> Peters	121
Claude LAFON et Pierre ALAUSE. — Recherches sur les <i>Theodoxus fluviatilis</i> L. (Gastéropodes - Prosobranches) du Bas-Languedoc : écologie et variations morphologiques	141

— II —

Claude COMBES et Louis-Philippe KNOEPFFLER. — <i>Euproctus asper</i> dans les Pyrénées-Orientales	147
Serge JACQUEMART et Yves COINEAU. — Un Trichoptère modificateur principal du milieu, <i>Stenophylax stellatus</i> Curtis	153
J. GÉRY et J. DELAGE. — Origine pathologique du <i>Stratum argenteum</i> chez certaines variétés phénotypiques de <i>Characidae</i> : les « Brass-Tetras »	167
Georges PETIT. — Rapport sur le fonctionnement du Laboratoire Arago en 1962	181
<i>Documents faunistiques, écologiques et météorologiques</i>	
D.T. JARRY et D.M. JARRY. — Confirmation de la présence en France d'une Laboulbéniale parasite des Blattes orientales : <i>Herpomyces periplanetae</i> Thaxter	193
Nicole COINEAU. — Présence de <i>Microcharon angelieri</i> dans la nappe phréatique de la Baillaurie (Banyuls-sur-Mer)	195
<i>Analyses d'ouvrages</i>	199

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES EFFETS BIOLOGIQUES DU MERCURE ET DE L'ARGENT DANS L'EAU DE MER

par J. SOYER

SOMMAIRE

I. — HISTORIQUE	2
II. — TEST UTILISÉ	3
III. — LE MERCURE	5
1) Mise au point	5
2) Effets biologiques du mercure sur le développement de <i>Paracentrotus lividus</i>	7
3) Conclusions	9
IV. — L'ARGENT	9
1) Mise au point	9
2) L'argent dans l'eau de mer	10
3) Analyse quantitative de l'argent	12
a) Méthode adoptée et résultats	13
b) Méthodes d'analyse	16
c) La dithizone; ses réactions	19
4) Effets biologiques de l'argent	23
a) Effets sur le développement de <i>Paracentrotus lividus</i> ..	23
b) Effets sur la fécondation de <i>Paracentrotus lividus</i> ..	26
c) Permanence des effets sur le développement de <i>Para-</i> <i>centrotus lividus</i>	27
d) Effets sur le développement d' <i>Arbacia lixula</i>	28
e) Additivité des actions biologiques de l'argent et du cuivre	29
V. — CONCLUSIONS	31
VI. — BIBLIOGRAPHIE	33

HISTORIQUE

La toxicité des sels de mercure et d'argent, connue depuis l'antiquité, a été mise à contribution dans les domaines de l'agriculture et de la médecine; aussi les publications qui s'y rapportent sont-elles innombrables. Par contre, les travaux concernant l'action biologique de ces deux métaux dans le domaine marin sont relativement rares. De plus, pendant longtemps, le matériel marin n'a été utilisé par les auteurs que pour mettre en évidence les propriétés toxiques de leurs sels, pour en déterminer les causes et pour trouver leur mode d'action. RICHET (1881), LILLIE (1921), HOADLEY (1923-1930), étudient, le premier sur des Poissons, les deux autres sur un Echinide, *Arbacia aequituberculata*, les effets du chlorure mercurique. DRZEWINA et BOHN (1926-1931) fournissent un grand nombre de données concernant l'action nocive que l'argent exerce sur les pluteus d'Echinides et sur une Planaire du genre *Convoluta*.

Ce n'est qu'après les travaux de GALTSOFF (1932), qui mettent en évidence la concentration de certains ions métalliques par les organismes marins, que les chercheurs commencent à envisager le rôle possible que pouvaient jouer les métaux lourds dans le développement de ces organismes. WATERMAN (1937) est l'un des premiers à penser à une action biologique de ces éléments, notamment au voisinage des côtes où leur concentration peut augmenter de façon considérable.

Les travaux de PYEFINCH et MOTT (1944-1948) et de CLARKE (1947) sur la toxicité des métaux utilisés dans les peintures dites « antifouling » destinées à empêcher la salissure des coques de bateaux, donnent des indications intéressantes sur la sensibilité des divers organismes fixés et de leurs larves.

BARNES et STANBURY (1948), HUNTER (1949), CORNER et SPARROW (1956-1957) étudient l'action des éléments lourds sur quelques Crustacés et mettent en évidence l'influence du mode de vie sur la résistance des différentes espèces. Ces auteurs constatent également que les actions de ces métaux lourds peuvent s'ajouter et parfois même se renforcer, notamment dans le cas

* Nous tenons à remercier très sincèrement pour l'appui constant qu'il nous a prodigué, M. P. BOUGIS, Professeur à la Faculté des Sciences de Paris, Sous-directeur de la Station Zoologique de Villefranche-sur-Mer où ce travail a été réalisé.

de mélange cuivre-mercure, comme l'avaient déjà indiqué PYE-FINCH et MOTT.

Le mercure et l'argent, qui entrent dans la composition d'algues et d'animaux marins et qui sont toxiques à un seuil peu élevé, doivent intervenir en écologie, bien qu'ils soient présents dans l'eau de mer à des concentrations plus faibles que celles utilisées par les auteurs précédents. Il était vraisemblable de penser qu'il était possible, à l'aide de tests plus fins, d'observer l'action nocive de quantités de métal se rapprochant davantage des teneurs naturelles de l'eau de mer. Aussi nous a-t-il paru intéressant d'étudier l'action du mercure et de l'argent sur le développement de *Paracentrotus lividus* et d'*Arbacia lixula*, en essayant de déterminer avec précision leur seuil de toxicité afin d'avoir une idée du rôle que peuvent jouer ces deux éléments en écologie marine.

TEST UTILISÉ

Nous avons utilisé dans notre travail un test fondé sur la rapidité de développement de larves d'Oursins.

Au cours d'une série de travaux, WILSON (1951), puis WILSON et ARMSTRONG (1952, 1954, 1958) avaient déjà constaté qu'il était possible de distinguer des eaux de salinités voisines, mais de composition planctonique différente, d'après la vitesse de développement des larves d'*Echinus esculentus*. En effet, dans certaines eaux, les larves de cet Oursin, obtenues par fécondation artificielle, se développaient plus lentement, parfois

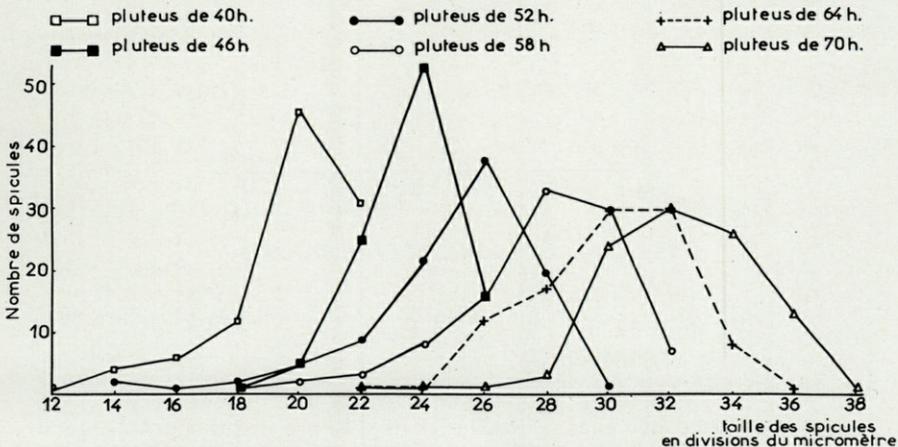


Fig. 1. — Courbes de croissance d'*Arbacia lixula*.

même de façon anormale, et mourraient plus vite que dans d'autres eaux, ce qui permettait de différencier des eaux « mauvaises » et des eaux « favorables ».

Dans ses travaux sur les effets biologiques du cuivre et du zinc, Bougis (1959, 1961) a repris ce test avec *Paracentrotus lividus*, en le perfectionnant. Pour mettre en évidence l'action biologique du mercure et de l'argent, nous avons employé la même méthode. Nous l'avons également adoptée avec *Arbacia lixula*, mais cette seconde espèce ayant un développement moins rapide que la première, il nous a fallu porter la durée des expériences de 40 heures avec *Paracentrotus* à 52 heures avec *Arbacia*, ce qui permet à celui-ci d'atteindre une taille suffisante (fig. 1) sans que la croissance se trouve ralentie (fig. 2). La technique est identique dans les deux cas et nous allons en faire ici l'exposé, en insistant sur les précautions à prendre pour assurer des conditions d'expérimentation aussi parfaites que possible.

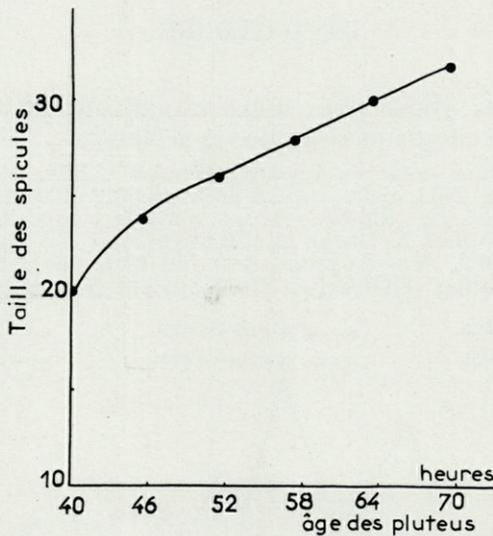


Fig. 2. — Croissance d'*Arbacia lixula*.

Les œufs, provenant d'une même femelle, sont lavés plusieurs fois, puis fécondés dans de l'eau de mer naturelle. Après la fécondation, un prélèvement est effectué afin de s'assurer du pourcentage d'œufs fécondés, tout lot fécondé à moins de 95 % étant rejeté. Ces œufs sont alors lavés, puis répartis en quantité égale dans des boîtes cylindriques en verre, contenant 250 cc des eaux à étudier. L'expérience ayant montré que le nombre d'œufs contenus dans chaque boîte pouvait influencer légèrement la croissance, l'optimum se situant vers 12 000 œufs, un rapide

comptage est pratiqué pour avoir une quantité d'œufs aussi voisine que possible de ce chiffre.

Ces boîtes sont ensuite placées dans un bain-marie dont la température est maintenue constante par thermostat à 20° C. Pour rendre les conditions encore plus homogènes, les boîtes sont permutées régulièrement.

Au bout d'un certain temps, les plutéus sont rapidement filtrés, puis jetés dans l'urée 6M et agités. Les tissus se dissolvent et on mesure 100 à 200 spicules par lot au microscope. La mensuration s'effectue de l'extrémité de la baguette somatique à l'extrémité de la baguette post-orale. En attendant d'être mesurés, les spicules sont conservés au froid (+ 2° C).

LE MERCURE

1. MISE AU POINT

Les travaux ayant trait à l'action biologique du mercure sont plus nombreux que ceux concernant la toxicité de l'argent, du fait de son utilisation dans les peintures « antifouling ».

La sensibilité au mercure des Vertébrés marins est pratiquement inconnue. A notre connaissance, RICHET (1881) est le seul auteur à avoir étudié l'effet de divers sels métalliques et en particulier du mercure sur des Poissons. Il utilisait dans ses expériences des Poissons méditerranéens, *Serranus cabrilla*, *Crenilabrus mediterraneus*, *Julis vulgaris* et *Julis gioffredi*. Il constate que le chlorure mercurique est un des sels les plus toxiques et qu'une concentration supérieure à 290 µgr par litre entraîne la mort des Poissons en moins de 48 heures. De ces expériences, RICHET déduit que l'action des métaux lourds dépend de leur concentration et non de leur poids atomique.

Les données concernant l'action du mercure sur les Crustacés sont plus nombreuses et mettent en évidence des variations considérables de sensibilité.

Les Cirripèdes ont été les mieux étudiés à cause du rôle qu'ils jouent dans la salissure des coques de bateaux. PYEFINCH et MOTT (1944-1948) montrent non seulement les différences de sensibilité qui existent entre les deux espèces *Balanus crenatus* et *B. balanoides*, mais encore les variations de celle-ci au cours du développement.

Au stade nauplius, *B. crenatus* se montre moins résistant que *B. balanoides* : une concentration de 90 µgr par litre entraîne une mortalité de 50 % chez le premier alors qu'une teneur de 230 µgr par litre provoque le même résultat chez le second. Les cypris de ces deux espèces se montrent extrêmement résistants; chez *B. crenatus*, plus sensible, une mortalité de 50 % n'est atteinte qu'avec une dose de 1 mgr par litre contre 3 mgr par litre pour *B. balanoides*. Par contre, une très faible quantité de mercure suffit à empêcher leur fixation et le cypris de *B. balanoides*, qui résiste à 3 mgr de mercure par litre, ne peut plus se fixer dès que la concentration atteint 50 µgr par litre.

Les adultes de *B. crenatus* se montrent plus résistants que ceux de *B. balanoides*, contrairement à ce qui se passait pour les larves. De plus, chez cette espèce, la sensibilité diminue avec l'âge. Une mortalité de 50 % n'est obtenue qu'avec 1,35 mgr par litre contre 360 µgr par litre pour *B. balanoides*.

Ces résultats ont été retrouvés par CLARKE (1947) chez *Balanus eburneus* et *B. balanoides*; cet auteur montre également que le stade cypris est le plus résistant. En effet la concentration de 16,6 mgr par litre nécessaire pour empêcher la fixation des larves est bien supérieure à celle supportée par les adultes. Ces variations de sensibilité au cours du développement paraissent donc courantes chez les Cirripèdes.

Les renseignements que nous possédons sur les autres Crustacés sont peu nombreux. HUNTER (1949) étudie et compare les actions du cuivre et du mercure sur un Amphipode, *Marinogammarus marinus*. Malheureusement il utilise un test de toxicité basé sur l'activité de l'animal, ce qui rend ses données peu comparables avec celles des autres auteurs. Il ressort de ses résultats qu'une quantité de 2,5 µgr de mercure par litre se montre très toxique pour *Marinogammarus marinus*.

Les travaux de BARNES et STANBURY (1948) sur *Nitocra spinipes* et de CORNER et SPARROW (1956, 1957) sur *Artemia salina*, *Elminius modestus* et *Acartia clausi*, sont à rapprocher, car ils permettent de mettre en évidence l'influence du mode de vie sur la résistance des différentes espèces. BARNES et STANBURY constatent qu'une mortalité de 50 % au bout de 24 heures est atteinte avec *Nitocra spinipes* dans une eau à teneur en mercure de 600 µgr par litre. Avec *Acartia clausi*, CORNER et SPARROW obtiennent le même résultat après un séjour de 2 heures 30 dans une eau à 50 µgr de mercure par litre. Cette différence de sensibilité est à mettre en relation avec le fait que le premier est un Copépode Harpacticide vivant dans des eaux plus côtières donc plus polluées, alors que le second est un Copépode planctonique de haute mer.

De même, CORNER et SPARROW mettent en évidence la très grande tolérance vis-à-vis du mercure des larves d'*Artemia salina*, espèce bien connue pour la faculté qu'elle a de s'adapter à des variations chimiques de grande amplitude : au bout de 2 heures 30, une mortalité de 50 % n'est atteinte qu'avec une concentration de 800 mgr de mercure par litre. Les larves d'*Elminius modestus* se montrent beaucoup plus sensibles et 30 µgr par litre suffisent pour obtenir le même résultat.

L'action du mercure sur les Echinodermes n'a été étudiée que pendant les premiers stades du développement. LILLIE (1921), HOADLEY (1923, 1930) étudient l'action de certains sels, dont le chlorure mercurique, sur la réaction de fertilisation et les premières phases de la segmentation d'*Arbacia aequituberculata*. Ils constatent que le chlorure mercurique n'empêche nullement la fécondation et favorise même l'élévation de la membrane de fertilisation; celle-ci peut être provoquée sur des œufs non fécondés par l'addition de fortes quantités de sel. Par contre une faible concentration en mercure suffit pour entraîner des troubles dans la segmentation, un retard dans le développement et une diminution de la viabilité du zygote.

WATERMAN (1937) étudie également l'action inhibitrice de plusieurs sels de métaux lourds sur le développement d'*Arbacia punctulata*. Le chlorure mercurique se montre l'un des plus toxiques bien que n'affectant nullement la fécondation et la réaction de fertilisation. La sensibilité de l'œuf semble augmenter avec les progrès du développement et une concentration de 15 µgr de mercure par litre suffit à le retarder. L'action du mercure est très rapide car des œufs plongés 5 minutes seulement dans une eau de mer à laquelle 290 µgr de mercure par litre ont été ajoutés ont leur croissance retardée de 24 heures.

Il est intéressant de remarquer que le mercure ne semble pas avoir le même mode d'action que les autres métaux lourds, en particulier le cuivre. En effet son action préalable ou simultanée provoque une augmentation des effets de ce dernier.

BARNES et STANBURY avaient constaté le fait qu'un mélange cuivre-mercure se montrait beaucoup plus toxique pour *Nitocra spinipes* que l'addition des effets respectifs ne le faisait supposer. HUNTER retrouve ce résultat avec *Marinogammarus marinus*. Il observe en plus qu'un animal déjà attaqué par le mercure se trouvait sensibilisé au cuivre alors que la réciproque n'était plus vraie. CORNER et SPARROW reprennent ces expériences avec *Artemia salina* et constatent les mêmes effets du mercure.

Ce métal aurait donc une action différente de celle du cuivre. Il agirait directement sur le protoplasme alors que le cuivre modifierait le métabolisme, ce qui expliquerait que seul ce dernier provoque une inhibition de la respiration.

Dans une publication plus récente (1957), les mêmes auteurs ont montré que les effets biologiques du mercure pouvaient être diminués dans une forte proportion par l'action de complexants comme le B.A.L., la cystéine, le glutathion et l'acide thioglycolique. Le cas est d'ailleurs général avec les métaux lourds.

2. EFFETS BIOLOGIQUES DU MERCURE SUR LE DÉVELOPPEMENT DE PARACENTROTUS LIVIDUS

L'eau de mer a été récoltée en surface à l'entrée de la rade de Villefranche, dans une bonbonne en polyéthylène. Cette eau, filtrée sur papier, nous a servi comme référence. Nous lui avons ajouté des doses de mercure (HgCl_2) variant de 1 à 10 μgr par litre et nous en avons observé les effets.

Les résultats obtenus le 3/2/60 nous ont montré que l'addition de 10 μgr de mercure par litre provoquait une très grande perturbation dans le développement. Il s'est révélé impossible d'établir une courbe de fréquence, vu le petit nombre de plutés que nous avions obtenus. Le squelette de ces derniers, de taille très réduite, était déformé.

Lors de la même expérience, une quantité de 5 μgr par litre a entraîné un retard très net dans le développement; de même une dose de 3 μgr par litre entraîne un décalage sensible de la courbe de fréquence. Par contre des quantités de 2 et 1 μgr par litre se sont montrées sans effet.

Ces résultats ont été portés sur la figure 3, A. Les courbes de fréquence obtenues avec 2 et 1 μgr par litre sont comparables à celle des témoins. La courbe obtenue avec 3 μgr par litre est légèrement décalée. Enfin, les plutés élevés dans une eau additionnée de 5 μgr par litre se montrent très attardés.

L'expérience du 1/3/60 (5, 4, 3, 2 et 1 μgr par litre) a confirmé ces résultats et nous a permis de mettre en évidence l'exis-

tence d'un seuil de toxicité situé entre 2 et 3 μgr par litre. En effet, les plutés obtenus dans une eau de mer additionnée de 3 μgr par litre avaient une longueur moyenne de 38,58 divisions du micromètre (389 μ) contre 39,34 pour les témoins (397 μ). La comparaison statistique des deux moyennes donne pour t une valeur de 2,45 significative ($P < 0,05$). Bien que cette valeur de t ne soit que significative, il semble bien que le seuil de toxicité se situe autour de 3 μgr par litre, car les courbes de fréquence des lots élevés dans la même eau à laquelle nous avons ajouté 1 et 2 μgr par litre, ont été identiques à celle du lot témoin.

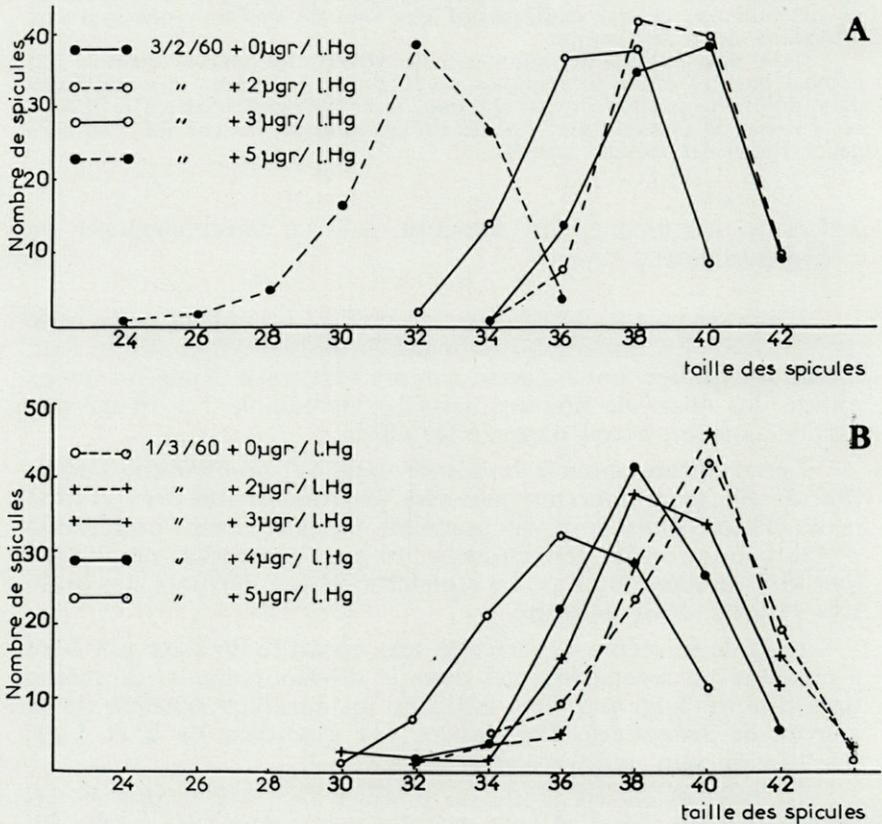


Fig. 3. — Effets du mercure sur la croissance de *Paracentrotus lividus*.

Nous n'avons porté sur la figure 3, B que les courbes obtenues pour 5, 4, 3 et 2 μgr de mercure par litre, la courbe de fréquence correspondant à 1 μgr par litre étant comparable à cette dernière.

3. CONCLUSIONS

Les expériences que nous avons réalisées nous ont montré que le mercure n'était toxique pour les larves de *Paracentrotus lividus* qu'à des doses relativement importantes : pour obtenir une diminution de la longueur des spicules décelable par notre test, une concentration de 3 μ gr de métal par litre est nécessaire. Or la seule valeur que nous possédons concernant sa concentration dans l'eau de mer nous indique une quantité de mercure de 0,03 μ gr par litre (STOCK et CUCUEL à Heligoland, 1934). Il est cependant permis de penser que des analyses ultérieures montreront que la teneur en mercure peut atteindre des valeurs plus élevées dans les eaux côtières, plus polluées, ou au contact du sédiment. Dans l'état actuel de nos connaissances, le mercure ne jouerait, du moins en ce qui concerne les larves d'Oursin, qu'un rôle réduit bien que, comme nous l'avons vu, il puisse renforcer l'action d'autres métaux lourds.

L'ARGENT

1. MISE AU POINT

Les données que nous possédons concernant l'action biologique de l'argent dans le domaine marin sont rares et manquent de précision. De plus l'action toxique de l'argent a été fortement controversée pendant longtemps : c'est ainsi que les résultats obtenus par RAULIN (1887) avec des cultures d'*Aspergillus* furent critiqués et l'année 1913 vit paraître 3 notes successives de CODUR, de CLÉMENT et de SAUTON qui arrivaient, avec le même matériel, à des conclusions variant dans de larges proportions et, parfois, contradictoires.

A notre connaissance, un seul auteur, LAROZE (1955), a étudié l'action des sels d'argent, sur *Squalus cephalus*. L'auteur constate que la toxicité de l'argent est très importante et qu'elle varie avec la température.

Il démontre que l'action toxique des métaux lourds sur les branchies de Poissons, n'est pas dans la coagulation du mucus qui les recouvre, mais dans une action plus intime sur le protoplasme des cellules, avec blocage enzymatique. Ce serait donc une véritable intoxication. Au-dessus de 15° C, l'action de l'argent augmente de façon sensible avec la température. La température de 15° C, à laquelle la plupart des métaux ont des effets toxiques réduits, doit être en rapport avec un maximum d'activité physiologique du Poisson, et par conséquent avec une désintoxication plus rapide, comme cela se passe avec les insecticides.

Les données concernant la sensibilité des divers Crustacés ne sont

ni plus nombreuses ni plus précises. CLARKE (1947) constate que le sulfate d'argent est un des sels les plus toxiques pour *Balanus eburneus* et *B. balanoides*. En effet, 400 µgr d'argent par litre entraînent la mort de 90 % des adultes de *B. balanoides* en 48 heures. CROGHAN (1958) étudie la résistance d'*Artemia salina* au nitrate d'argent. Il démontre que, contrairement à ce qu'avaient écrit BOONE et BAAS BECKING (1931) ce sel est extrêmement toxique pour *Artemia salina* et qu'une concentration de 1 mgr d'argent par litre entraîne la mort au bout d'une vingtaine de minutes.

Les œufs, le sperme et les larves de *Paracentrotus lividus*, des Planares du genre *Convoluta*, ont été utilisés par DRZEWINA et BOHN (1921 à 1931) lors de leurs recherches sur la nature physique ou chimique de l'action de l'argent.

Si les données fournies par ces deux auteurs manquent de précision surtout quant aux doses employées, elles sont néanmoins intéressantes, car elles nous donnent une idée de la complexité du problème envisagé.

DRZEWINA et BOHN constatent tout d'abord une action immédiate de l'argent; des pluteus nageant, placés dans une coupelle en argent, sont immédiatement paralysés, puis cytolisés en moins de 10 minutes. Les *Convoluta*, arrivant au contact d'une pièce de monnaie, se coupent en deux et se cytolisent. A notre avis, ces effets brutaux devaient être en rapport avec l'importante concentration en métal et le faible volume utilisés.

Ces deux auteurs mettent en évidence des effets plus tardifs. Trem-pant des œufs dans de l'eau d'argent (eau obtenue en faisant séjourner de l'eau de mer dans un récipient en argent), ils constatent qu'un bain de quelques secondes (parfois 2 secondes) suffit à empêcher le développement et à provoquer la cytolyse au bout d'un temps variable. Ils montrent l'influence du nombre d'individus en expérience sur la résistance de ces individus. Ils constatent également que la lumière agit de façon sensible sur l'action toxique de l'argent. Bien avant HOLM JENSEN (1948), ils observent l'action antagoniste à celle de l'argent, de certains acides aminés tels que le glycocolle et l'alanine. Ils remarquent également l'action antagoniste que l'étain exerce sur l'inhibition par l'argent de la calcification du pluteus.

2. L'ARGENT DANS L'EAU DE MER

La présence de l'argent dans l'eau de mer est connue depuis fort longtemps. Dès 1787, PROUST, dans une lettre adressée à LA METHERIE, qui la publia dans le *Journal de Physique* de la même année, déclare qu'il croit à l'existence dans l'eau de mer de l'argent et d'autres métaux.

Dans une note publiée en 1799 dans le même périodique, où il affirme la présence du mercure dans l'eau de mer et dans le sel marin, l'illustre chimiste indique un moyen ingénieux de vérifier ses affirmations, moyen basé sur l'action réductrice qu'une lame de cuivre exerce sur le chlorure d'argent dissous dans le chlorure de sodium : « Si quelqu'un, après avoir lu ceci, prenait la peine d'observer si le doublage d'un vaisseau nouvellement mis à la mer s'argentait dans quelque partie, surtout lorsqu'il commence à sillonner pour la première fois les mers; s'il prenait la peine de suspendre dans leurs eaux une plaque d'or pour en observer les changements, il pourrait se flatter peut-être de fournir, à son retour,

un article de plus à l'histoire naturelle du sel marin ? Qui sait si la destruction des doublages, quelquefois si rapide, et encore inconnue dans sa cause, ne dépendrait point de l'existence du mercure, plus abondant dans certaines mers que dans d'autres. »

TULD confirme par cette méthode l'existence de l'argent dans l'eau de mer, existence constatée par MALAGUTI, DUROCHER et SARZEAU (1850) dans l'eau de la Manche, auteurs auxquels on doit la première estimation quantitative (0,000 01 gr/1).

TULD constate en effet que le cuivre du doublage d'un bateau ayant navigué pendant sept ans dans le Pacifique, contenait 0,5 % d'argent. En comparant un doublage en cuivre neuf avec un doublage ayant servi pendant trois ans dans le Pacifique, cet auteur constate que le second contenait huit fois plus d'argent que le premier (Globe 14/1/1857).

FORCHHAMMER (1865) confirme l'existence de l'argent dans les eaux de la Baltique. Mais à notre connaissance, trois publications seulement font état de valeurs précises concernant la teneur en argent des différentes mers.

Les travaux de HABER (1927), réalisés avec des moyens très importants, sont de loin les plus complets. Cet auteur, qui s'intéressait surtout à l'or, a en effet analysé de très nombreux échantillons de provenances variées mais, comme il l'indique lui-même, ses données sont relativement peu précises en dépit des précautions observées. Elles sont cependant intéressantes par leur nombre et par l'idée qu'elles donnent des variations de la teneur en argent suivant les lieux et la profondeur, variations que nous allons tenter de mettre en évidence à partir des résultats bruts fournis par HABER.

En ce qui concerne le Pacifique, les échantillons récoltés à l'entrée de la baie de San Francisco présentent des concentrations en argent variant de 0,01 à 0,29 μgr par litre, la valeur moyenne se situant aux environs de 0,07 μg . Mais dans les échantillons récoltés à l'intérieur de la baie, près du débarcadère d'Oakland, cet auteur trouve des quantités d'argent nettement supérieures, de 0,01 à 3,10 μgr par litre, la moyenne oscillant autour de 0,400 μgr . La teneur en argent, comme c'est d'ailleurs le cas pour la plupart des métaux lourds, augmente de façon sensible au voisinage des côtes.

En Atlantique, la concentration en argent est plus forte et les teneurs varient autour d'une moyenne de 0,300 μgr par litre (0,04 < C < 4,60 μgr /l). Ces résultats nous ont également permis de constater que la quantité d'argent contenu dans l'eau de mer diminuait avec la profondeur : à la station 11 (campagne du « Meteor »), alors que la concentration en argent des eaux de surface est de 1,60 μgr par litre, elle n'est plus que de 0,1 μgr /l à 700 m, pour atteindre 0,04 μgr à 2 500 m. Si, pour les autres stations, la baisse de concentration ne se fait pas toujours de façon aussi régulière, le phénomène est cependant remarquablement constant.

Il se retrouve d'ailleurs dans les eaux arctiques (campagne de la « Dana ») qui présentent des teneurs en argent plus fortes que celles de l'Atlantique et du Pacifique. Elles descendent en effet très rarement en dessous de 0,100 μgr par litre et, en surface, la teneur moyenne est de

0,400 μgr par litre, alors qu'à 400 m, elle s'établit autour de 0,120 μgr . Les échantillons récoltés plus au Nord par le « Godthaab » montrent des concentrations tout à fait comparables, mais il semble que la diminution observée avec la profondeur soit ici en rapport avec l'augmentation de la salinité, l'influence de l'eau provenant de la fonte des glaces à très forte concentration en argent (1 μgr par litre) se faisant sentir essentiellement sur les eaux de surface.

Plus récemment NODDACK et NODDACK (1940), se basant sur une seule analyse pratiquée sur un échantillon d'eau de surface prélevé dans le Gullmarfjord, ont évalué la concentration en argent à 0,15 μgr par litre.

Dans un travail paru en 1952, BLACK et MITCHELL indiquent, pour des eaux prises au large de Plymouth, des teneurs de 2,9 et 2,1 μgr par litre, et inférieures à 0,4 μgr pour des échantillons récoltés à Ardencape Bay et Atlantic Bridge. Ces résultats sont en contradiction avec ceux que Haber a obtenu à San Francisco, mais ces auteurs insistent sur le fait qu'ils travaillent à la limite des possibilités de la méthode employée et que leurs résultats sont sujets à caution.

Il nous faut rappeler les travaux de LIZUNOV et LISITSYN (1955) sur la répartition et la composition des éléments en suspension de la mer de Berhing, bien que les données de ces auteurs ne correspondent qu'à l'argent sestonique. Ces données ne sont d'ailleurs pas numériques, mais elles permettent de faire d'intéressantes comparaisons. LIZUNOV et LISITSYN observent, en effet, une concentration exceptionnelle de l'argent au printemps et en automne dans certaines parties du littoral et notamment à l'embouchure des rivières Anadyr' et Kamtchatka, mais ils attribuent celle-ci à la présence de gîtes métallifères sous-marins et côtiers et non à l'apport des cours d'eau, dont la teneur en argent est très faible.

Mais, comme l'indique RICHARDS (1956), toutes ces valeurs, obtenues par des méthodes différentes, ne sont pas comparables et il faut bien se garder d'en tirer des conclusions générales.

Au cours de notre travail, nous avons dû mettre au point une méthode simple d'analyse quantitative de l'argent dans l'eau de mer de façon à pouvoir préciser la valeur du seuil de toxicité de ce métal.

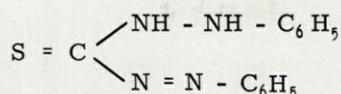
3. ANALYSE QUANTITATIVE DE L'ARGENT

Comme nous l'avons vu dans l'historique, les données concernant la teneur en argent des différentes mers sont rares. C'est que le dosage de l'argent se heurte non seulement aux difficultés communes à l'analyse quantitative des autres oligoéléments, contamination possible des échantillons et mauvaise conservation de ces échantillons, mais aussi au fait qu'il n'existe aucun réactif véritablement spécifique de ce métal.

Les deux réactifs les plus employés en colorimétrie, sont la p-diéthyl ou p-diméthylaminobenzylidènerhodanine et la diphénylthiocarbazone ou dithizone; nous avons utilisé cette dernière au cours de notre travail.

a) *Caractéristiques de la dithizone et de ses réactions :*

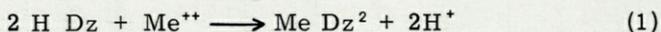
La dithizone, de formule



est un solide noir violet, soluble dans la plupart des solvants organiques. En analyse, sont utilisés le tétrachlorure de carbone et le chloroforme; nous nous sommes servi de ce dernier. La solution obtenue est dichroïque, rouge en lumière transmise et verte en lumière réfléchie.

Lorsqu'une telle solution est agitée avec une solution aqueuse de métal lourd, il y a formation d'un dithizonate primaire existant pour tous les métaux lourds et se formant, en général, en milieu acide.

La réaction, réversible est du type :



où Me^{++} est un métal bivalent.

Dans ce cas, la constante d'équilibre de la réaction est :

$$k = \frac{(\text{MeDz}^2)_w (\text{H}^+)_w^2}{(\text{Me}^{++})_w (\text{HDz})_w^2} \quad (2)$$

En présence d'une phase aqueuse et d'une phase organique, cette constante d'équilibre devient :

$$\frac{(\text{MeDz}^2)_o (\text{H}^+)_w^2}{(\text{Me}^{++})_w (\text{HDz})_o^2} = K \quad (3)$$

dans laquelle o et w désignent la phase organique et la solution aqueuse. En effet, les coefficients de distribution de la dithizone et du complexe métallique entre l'eau et le solvant organique sont :

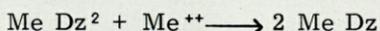
$$D_{\text{HDz}} = \frac{(\text{HDz})_w}{(\text{HDz})_o} \quad \text{et} \quad D_{\text{MeDz}^2} = \frac{(\text{MeDz}^2)_w}{(\text{MeDz}^2)_o} \quad (4)$$

A partir de l'équation 3, on tire le coefficient d'extraction du métal :

$$\frac{(\text{MeDz}^2)_o}{(\text{Me}^{++})_w} = K \frac{(\text{H}^2\text{Dz})_o^2}{(\text{H}^+)_o^2} \quad (5)$$

Le coefficient K, ou constante d'extraction est en général obtenu par expérimentation directe. De cette dernière équation il ressort que l'extractibilité du métal à un pH donné augmente avec le carré de l'excès de dithizone dans la phase organique, ou encore qu'avec un excès de dithizone constant, elle est inversement proportionnelle au carré de la concentration en H⁺.

En milieu basique ou déficitaire en dithizone, pour certains métaux comme le cuivre, l'argent et le mercure, il y a formation d'un dithizonate secondaire d'après la réaction réversible :



Les composés métalliques, solubles en général dans le solvant organique, présentent des couleurs extrêmement vives, violet, jaune, orangé, rouge. C'est ainsi que l'argent, en milieu acide et en présence d'un léger excès de dithizonate, réagit pour donner avec cette dernière un dithizonate primaire d'argent, de couleur jaune, Ag Dz, soluble dans le tétrachlorure de carbone et le chloroforme (fig. 4). En milieu neutre ou basique, il y a formation du dithizonate secondaire, Ag₂Dz, de couleur violacée,

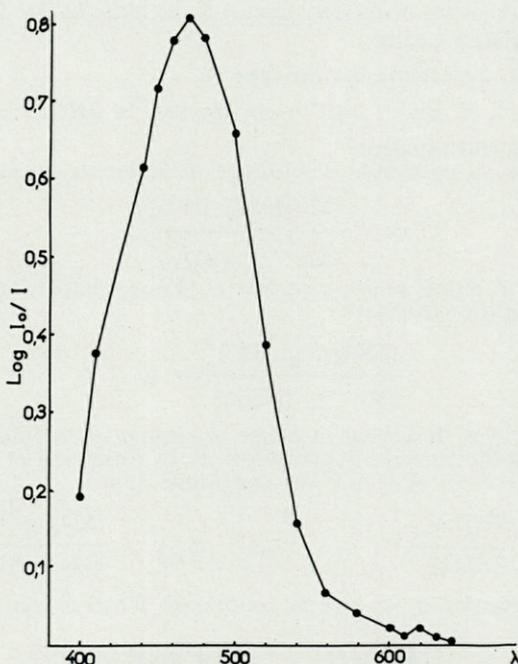


Fig. 4. — Spectre d'absorption du dithizonate primaire d'argent.

pratiquement insoluble, et qui ne présente aucun intérêt en analyse.

L'intensité et la vitesse de réaction dépendent d'un certain nombre de facteurs tels que la concentration en dithizone, la présence de complexants masquant les métaux, le rapport entre le volume de la phase aqueuse et celui de la phase organique contenant le réactif, et surtout le pH et le temps d'agitation.

En effet, si en milieu basique la plupart des métaux sont extraits rapidement et complètement, en milieu acide, il n'en est plus de même. Les métaux à constante d'extraction importante comme le palladium, l'argent, le mercure, sont extraits beaucoup plus vite que ceux à petite constante tels que le cuivre; le zinc et le plomb nécessitent pour leur extraction un milieu faiblement acide et même basique. Ce fait est important en analyse car il permet d'orienter la réaction vers un métal défini et de la rendre ainsi spécifique. Or le problème le plus important posé par l'eau de mer provient du fait que nous y trouvons en quantité variable, du bismuth, du cobalt, du cuivre, du zinc, de l'étain, du fer, de l'or, du mercure, du manganèse, du nickel et de l'argent, métaux qui forment tous des composés avec la dithizone.

WICHMANN (1939), KOROLEFF (1950), WOLFF (1954), ont pu établir des séries de courbes mettant en évidence les relations entre le pH de la phase aqueuse et la complète extraction des différents métaux. Ces courbes sont fonctions des conditions dans lesquelles elles ont été obtenues, ce qui explique les variations observées d'un auteur à l'autre et notamment par WOLFF.

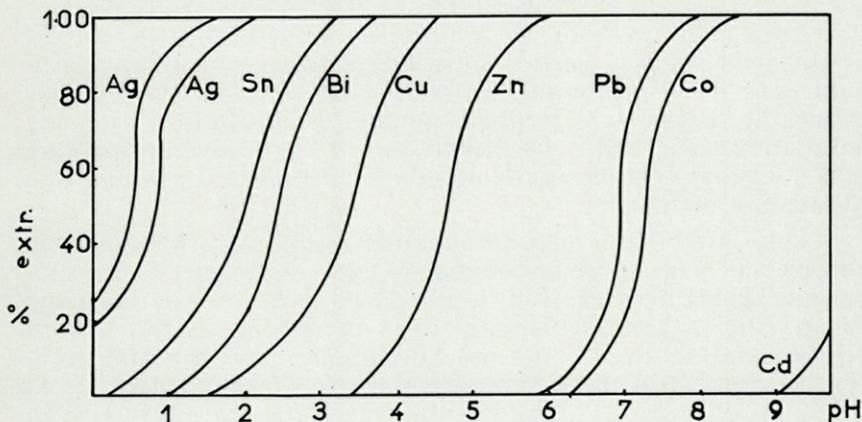


Fig. 5. — Pourcentage d'extraction des différents métaux par la dithizone en fonction du pH (d'après WICHMANN, revu par WOLFF).

D'après KOROLEFF, à pH très acide (pH 2), une agitation de cinq minutes est suffisante pour obtenir une extraction complète. D'autre part, d'après les courbes du même auteur et celles de WOLFF (fig. 5), à un tel pH, l'argent serait pratiquement le seul métal à entrer en combinaison avec la dithizone.

Mais comme l'indique KOROLEFF :

— en pratique, une élimination totale des interférences par le pH n'est pas possible et il est nécessaire de faire agir les complexants.

— les réactions sont plus longues dans le chloroforme que dans le tétrachlorure de carbone.

— certains anions comme les cyanures, les citrates, les tartrates, ont également une influence sur les réactions qui diffère d'un métal à l'autre. En effet, les métaux forment avec eux des complexes plus forts que ceux formés avec la dithizone.

— Enfin, et surtout en eau de mer océanique, à plus forte raison en Méditerranée, où la salinité est forte, l'extraction doit se faire à un pH plus important que la constante d'équilibre ne le laisse prévoir.

Ce dernier fait a été mis en évidence par FRIEDEBERG (1955) qui constate que si, en l'absence de chlorures, la totalité de l'argent est extraite à pH 2, le pH doit être porté à 3,5 pour une teneur en chlorures supérieure à 1 % et à 5 pour une teneur de 20 %.

b) Méthodes d'analyse :

En l'absence de toute méthode d'analyse spécialement adaptée à l'eau de mer, nous avons utilisé les méthodes classiques, en essayant d'éliminer les interférences dues aux autres métaux. Ces méthodes sont de plusieurs types et nous allons les passer en revue.

— Méthode de la couleur unique (« monocolour method »).

Dans cette méthode, la solution aqueuse est ajustée au pH voulu, puis agitée avec la solution de dithizone un temps suffisant pour que l'extraction soit complète. On fait alors repasser l'excès de réactif dans la phase aqueuse par agitation avec une solution basique diluée. La mesure se fait sur la phase organique à la longueur d'onde pour laquelle le dithizonate possède une absorption maximum.

Cette méthode n'est pratiquement utilisée que lorsqu'on ne se sert pas d'un spectrophotomètre, car elle permet la comparaison directe avec des solutions étalons préparées de la même façon. Elle présente cependant deux inconvénients qui la font rejeter dans la plupart des cas : d'une part, l'usage d'une solution basique trop forte peut entraîner la décomposition de la dithizone et même la transformation du dithizonate primaire en dithizonate secondaire; d'autre part, si au contraire la solution est trop faible, l'élimination de la dithizone en excès n'est pas totale.

— Méthode des couleurs superposées (« mixed colour method »).
Réactif : dithizone.

Ici, l'excès de réactif est laissé dans la phase organique, mais la mesure se fait au moyen d'un spectrophotomètre, soit

à la longueur d'onde à laquelle l'absorption du dithizonate formé est maximale (ici 470 m μ , et l'on observera alors une augmentation de l'absorption proportionnelle à la quantité de dithizonate formé), soit à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la dithizone (620 m μ et l'on observera alors une diminution de l'absorption correspondant à la quantité de dithizone transformée en dithizonate, diminution évidemment proportionnelle à la quantité de métal fixé).

Mais pour que les résultats soient en accord avec la loi de Beer, il est nécessaire que la lumière soit monochromatique et la dithizone suffisamment en excès.

Nos essais de dosage de l'argent par cette méthode, en utilisant la dithizone comme réactif, se sont montrés négatifs, bien que nous ayons abaissé le pH de l'eau de mer à 4, valeur minimale de pH à laquelle peut se faire l'extraction. La réaction n'est pas spécifique.

Le cuivre notamment est extrait à ce pH. Présent dans l'eau de mer à une concentration de l'ordre de 1 μ gr/l, ce ne serait pas le seul métal à être extrait et, en se basant sur les constantes d'extraction, le mercure et l'or pourraient également produire des interférences; celles-ci seraient moins importantes car les teneurs naturelles de l'or (HABER, 1927 : 0,004 μ gr/l) et du mercure (STOCK et CUCUEL, 1934 : 0,03 μ gr/l) sont faibles.

Nous avons laissé de côté la méthode préconisée par KOROLEFF en conclusion à sa thèse pour éliminer les dithizonates de cuivre et de mercure, car elle nécessite l'emploi de nombreuses solutions et des manipulations multiples; or le chloroforme étant légèrement soluble dans l'eau, chaque manipulation et agitation en présence d'une solution aqueuse provoque, tout en augmentant les risques de contamination, une concentration de la fraction organique qui rend délicate l'interprétation des résultats.

— Méthode de la réversion.

Cette troisième méthode consiste à faire agir la solution de réactif sur la solution aqueuse de métal, puis à faire une mesure à la longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption de la dithizone, longueur d'onde à laquelle les dithizonates n'ont qu'une faible absorption. Ensuite on fait agir un complexant du métal à analyser. Le dithizonate de ce métal est ainsi décomposé, libérant la fraction de dithizone combinée et provoquant alors une concentration de la solution proportionnelle à la quantité de métal. Il devient même possible d'extraire à nouveau le métal de la phase aqueuse et de le doser directement.

L'EDTA, d'après HARA (1958), complexerait tous les métaux

autres que l'argent. Pour notre part, nous avons essayé la méthode de la réversion d'IRVING et ANDREW (1949). Ces deux auteurs utilisent, pour la réversion du dithizonate primaire d'argent, l'iodure de potassium, qui forme avec l'argent un complexe stable en libérant la dithizone.

Nos essais nous ont montré que dans le cas de l'eau de mer la réaction n'était pas spécifique, l'iodure de potassium provoquant la réversion d'autres dithizonates que celui de l'argent. Aussi n'avons-nous pas persisté.

Le cuivre étant le principal agent d'interférence, nous en sommes venus à utiliser le dithizonate de cuivre comme réactif, ce qui élimine presque totalement l'influence de ce métal.

— Méthode des couleurs superposées (mixed-colour method).
Réactif : dithizonate de cuivre.

Une erreur négative peut apparaître dans l'estimation quantitative de l'argent avec ce réactif dans le cas où le cuivre est présent en proportions relativement importantes. D'après SANDELL (1959), en présence de 2,5 mgr de cuivre, l'erreur serait de 0,0005 pour 0,010 mgr d'argent. Dans le cas de l'eau de mer son influence peut donc être considérée comme négligeable.

L'emploi du dithizonate de cuivre éliminant en principe tout danger d'interférence, l'utilisation d'un pH très acide ne se justifie plus. Le fait de ne pas ajouter de tampon à l'eau de mer, donc de ne pas modifier son acidité, présente l'avantage de limiter les dangers de contamination et de travailler sur de l'eau aussi peu modifiée que possible.

Cependant, travailler au pH de l'eau de mer, donc en milieu alcalin (pH 8,2), ne va pas sans inconvénient, du moins du point de vue théorique :

— le dithizonate de cuivre primaire doit se transformer en dithizonate de cuivre secondaire de couleur jaune, qui va venir masquer la coloration due au dithizonate d'argent;

— à la place du dithizonate primaire d'argent, seul dosable en colorimétrie, doit se former le dithizonate secondaire, de couleur violacé et insoluble dans le chloroforme.

En pratique, dans les conditions de nos expériences, aucune de ces deux transformations ne s'est manifestée.

Nous avons réalisé quelques expériences destinées à mettre en évidence la spécificité du dithizonate de cuivre en faveur de l'argent au pH naturel de l'eau de mer. Nous avons pu constater qu'elle était tout à fait satisfaisante.

Nous avons été amené à travailler sur des volumes d'eau de mer relativement importants de telle façon que la quantité

d'argent contenue naturellement dans l'échantillon soit suffisante pour être dosée.

c) *Méthode adoptée :*

Solutions

— Dithizone et chloroforme.

La dithizone est purifiée et le chloroforme distillé, bien que de telles précautions soient en principe inutiles lorsque le réactif utilisé est le dithizonate de cuivre.

Pour purifier la dithizone, nous avons utilisé la méthode de BARNES (1959) : dans un séparateur sont placés 500 cm³ d'eau bidistillée, avec 10 cm³ de NH₄OH et 50 cm³ de chloroforme. Le tout est agité pendant 30 secondes. L'opération est répétée plusieurs fois en renouvelant le chloroforme jusqu'à ce que la phase organique présente une teinte vert clair. La phase aqueuse est alors acidifiée avec ClH. Ensuite, l'extraction de la dithizone se fait en ajoutant de petites quantités de chloroforme et en les agitant 1 minute environ. Les extraits sont recueillis dans un ballon jaugé de 100 cm³ et complétés au volume avec du chloroforme.

— Dithizonate de cuivre.

La préparation du dithizonate de cuivre est faite en suivant les indications de SANDELL.

Une certaine quantité de la solution de dithizone est placée dans une ampoule à décanter avec une solution de SO₄H₂ 0,05 N, et agitée pendant 1 à 2 minutes. La phase organique est recueillie, puis lavée avec SO₄H₂ 0,01 N pour enlever les gouttelettes de solution aqueuse de cuivre en suspension. Le dithizonate de cuivre est récupéré et on complète au volume avec du chloroforme.

La solution mère de dithizone se conserve bien au froid (+ 2° C) et à l'obscurité, à condition que sa surface libre soit couverte d'une couche de chlorhydrate d'hydroxylamine pour éviter l'oxydation.

Il vaut mieux préparer le dithizonate de cuivre juste avant son utilisation. En faisant la solution fille de dithizonate de cuivre, il ne faut pas oublier que la légère miscibilité du chloroforme avec l'eau de mer entraîne une concentration importante de cette solution après l'agitation; celle-ci aura une concentration suffisamment faible (absorption à 550 m μ = 0,400), de façon à ce que la précision du spectrophotomètre soit suffisante pour les valeurs trouvées à la nouvelle concentration.

— Solution standard d'argent.

Les solutions d'argent sont fabriquées à partir d'une solution de stockage, obtenue en faisant dissoudre dans 1 000 cc

d'eau distillée sur quartz, 157,4 mgr de NO_3Ag préalablement desséché à 100° . 1 cc de la solution mère contient alors 100 μgr d'argent.

— *Echantillons d'eau de mer.*

L'eau de mer est récoltée en surface dans des bouteilles en polyéthylène, à un point déterminé, situé à l'entrée de la rade de Villefranche. Nous avons traité les échantillons dans des délais ne dépassant pas 5 heures.

— *Coefficient de concentration dans le chloroforme.*

Dans cette série d'expériences, nous n'avons pas pratiqué une saturation préalable de la phase aqueuse. Pour pouvoir comparer directement les valeurs trouvées avec celles obtenues pour la solution de dithizonate de cuivre utilisée comme réactif, il nous a fallu estimer la quantité de chloroforme absorbée par l'eau de mer dans les conditions d'expérience. Nous avons employé la méthode suivante :

20 cm^3 d'une solution de Rouge Soudan III dans le chloroforme, sont agités pendant 5 minutes avec 2 litres d'eau de mer. En comparant la valeur maximum de l'absorption après l'agitation, à celle trouvée avant, il est possible d'obtenir le coefficient de dissolution du chloroforme dans l'eau de mer. Il faut évidemment tenir compte de la substance jaune de KALLE et pratiquer un « blanc ». La valeur trouvée a été de 0,51-0,52. Le coefficient par lequel il faut alors multiplier les nouvelles valeurs est 0,515.

Technique.

— *extraction de l'argent* : on verse 2 litres d'eau de mer dans une ampoule à décanter de 3 litres et on leur ajoute 20 cc de dithizonate de cuivre. On agite 5 minutes. L'absorption de la phase organique obtenue est mesurée aux longueurs d'onde de 470 $\text{m}\mu$ et 550 $\text{m}\mu$. Ces valeurs sont rectifiées au moyen d'un blanc de façon à éliminer l'interférence due à la substance jaune de KALLE. Pour rétablir la concentration initiale, il suffit de multiplier ces nouvelles valeurs par le facteur 0,515. La différence observée entre la valeur à 550 $\text{m}\mu$ ainsi obtenue et celle du témoin à la même longueur d'onde est due à l'argent contenu dans les 2 litres. La teneur en argent est évaluée en comparant cet écart à ceux d'une courbe étalon obtenus dans les mêmes conditions.

— *Obtention d'un blanc* : un second échantillon de 2 litres d'eau de mer de la même provenance, est agité avec 20 cc de solvant pur, sans réactif, pendant 5 minutes. L'absorption de la phase organique est mesurée aux mêmes longueurs d'onde

que précédemment et la valeur à $550 \text{ m}\mu$ trouvée est retranchée des valeurs correspondantes des autres échantillons.

— *Obtention de la courbe étalon* : on ajoute une quantité d'argent connue à 2 nouveaux litres d'eau de mer de la même origine et on pratique une extraction comme précédemment. La valeur de l'absorption obtenue est corrigée puis comparée non pas à celle du réactif mais à celle de la phase organique correspondant aux deux premiers litres d'eau de mer. La différence observée est due à la quantité d'argent ajoutée.

Cette opération est répétée pour des doses variées d'argent, avec chaque fois 2 litres d'eau de mer vierge. Les résultats montrent une diminution de l'absorption à $550 \text{ m}\mu$ proportionnelle à la quantité d'argent ajoutée, donc en accord avec la loi de Beer.

Il arrive qu'il y ait des variations de concentration de la phase organique. Les variations sont toujours très faibles et elles

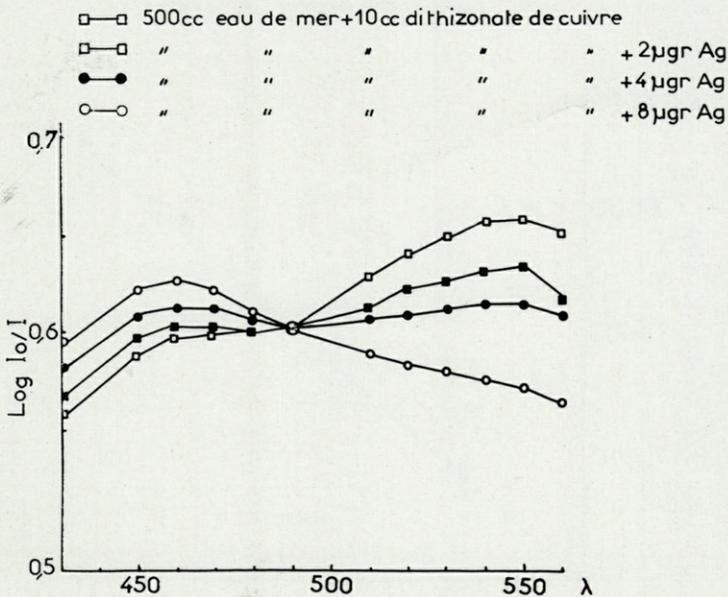


Fig. 6. — Spectres d'absorption obtenus par la méthode des couleurs superposées (réactif : dithizonate de cuivre) lors de l'extraction de 2, 4 et 8 μgr d'argent ajoutés à 500 cm^3 d'eau de mer.

sont sans doute dues aux quelques cc de solution d'argent que nous avons ajouté pour obtenir les valeurs de la courbe étalon. Il est possible d'éliminer l'influence de ces variations. En effet,

l'examen des différents spectres d'absorption obtenus par cette méthode nous a montré qu'il existait une longueur d'onde (490 m μ) à laquelle la transmittance de la phase organique demeurait remarquablement fixe, quelles que soient les proportions respectives de dithizonate de cuivre et de dithizonate d'argent, à condition que la concentration reste constante (fig. 6). La mesure de la transmittance à cette longueur d'onde permet de déceler les moindres variations de concentration et de les rectifier.

Pour chaque échantillon, nous avons mesuré la transmittance à 490 m μ , la valeur trouvée étant corrigée comme précédemment. Nous avons fait alors la différence algébrique entre cette valeur et celle du témoin à la même longueur d'onde et nous avons effectué la correction sur les valeurs trouvées aux autres longueurs d'onde.

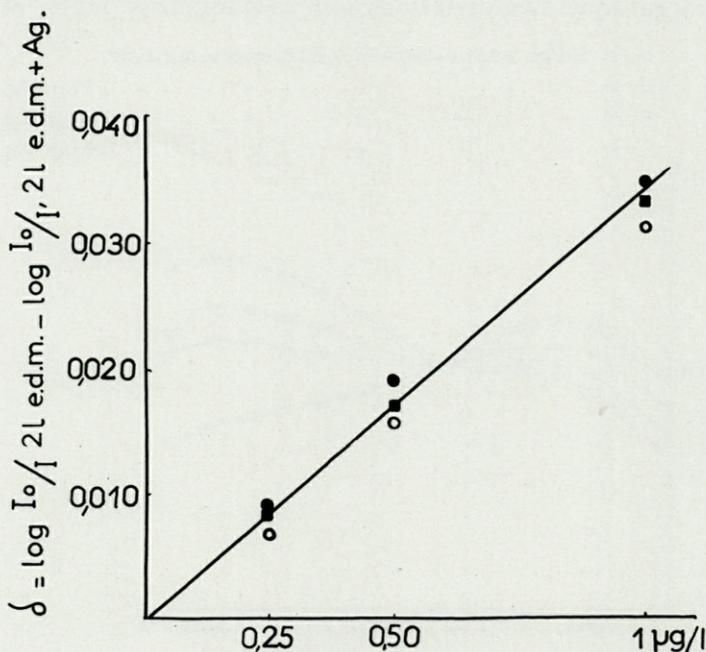


Fig. 7. — Courbe étalon.

Nous n'avons porté sur la figure 7 que les résultats obtenus lors de trois séries de mesures, afin d'avoir une courbe étalon suffisamment claire. En réalité, les valeurs portées sur cette courbe ont été confirmées lors des 10 séries de dosages que nous

avons réalisées. Dans le tableau suivant, nous indiquons les teneurs en argent des différents échantillons d'eau de mer analysés. Nous pouvons remarquer que lorsque nous avons pratiqué 2 dosages d'une même eau, les résultats ont été très voisins, ce qui est en faveur de notre méthode.

Les teneurs obtenues sont d'ailleurs en rapport avec les données indiquées par HABER, NODDACK et NODDACK, et BLACK et MITCHELL.

Date	Nombre de dosages	Teneur ($\mu\text{gr/L}$)
14/11/61	1	0,12
15/11/61	1	0,00
16/11/61	1	0,16
17/11/61	2	0,10 - 0,12
18/11/61	1	0,25
20/11/61	2	0,11 - 0,11
21/11/61	1	0,00
22/11/61	1	0,12
23/11/61	1	0,00

4. EFFETS BIOLOGIQUES DE L'ARGENT

Nous avons procédé avec l'argent comme avec le mercure.

a) *Effets sur le développement de Paracentrotus lividus.*

Dans notre première série d'essais, la teneur en argent de l'eau de mer nous servant comme référence n'a pas été déterminée.

Lors de l'expérience du 23/11/60, nous avons ajouté à l'eau de mer des quantités d'argent (NO_3Ag) variant de 100 à 10 μgr par litre. Nous n'avons pas obtenu de plutéus. Une expérience complémentaire (25/11/60) nous a montré que la segmentation des œufs, très ralentie, se faisait de façon aberrante.

L'addition de 2 μgr par litre d'argent, si elle n'empêche pas totalement le développement des œufs, entraîne un retard considérable de ce dernier : sur les 10 000 œufs environ que nous avons placés en élevage, une centaine seulement sont arrivés au stade plutéus, et leurs spicules, de taille réduite, étaient difformes.

Nous avons, au cours des expériences du 5/1/60, du 19/1/60 et du 5/4/60, étudié l'influence de doses d'argent inférieures ou égales à 1 μgr par litre. Au cours de ces essais, nous avons mis en évidence un seuil de toxicité et les résultats obtenus ont été confirmés dans les expériences du 19/1/60, 23/3/60 et 20/4/60.

L'addition de 1 μgr d'argent à l'eau de mer utilisée, provoque une diminution importante de la taille des plutés, par rapport à celles des témoins. La longueur moyenne des spicules de deux lots témoins est de 39,95 divisions du micromètre (397 μ) contre 32,64 (329 μ) pour les deux lots expérimentés. La comparaison statistique des deux moyennes donne pour t une valeur de 21,36 hautement significative ($P < 0,001$) (fig. 8, A).

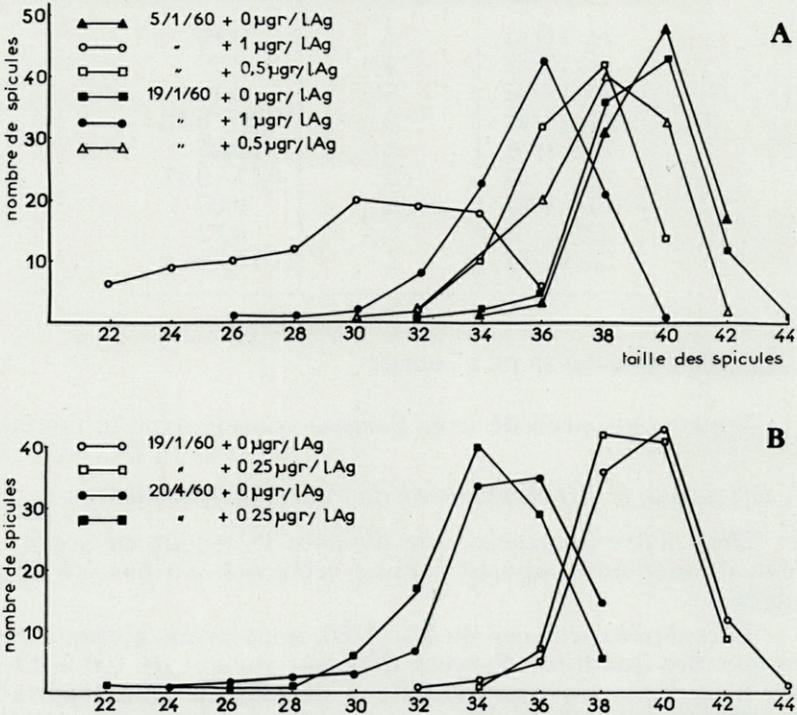


Fig. 8. — Effets de l'argent sur le développement de *Paracentrotus lividus*.

Avec la même méthode, une quantité de 0,5 μgr d'argent par litre se montre avoir une action importante. La courbe de fréquence est sensiblement décalée : la longueur moyenne des deux lots expérimentés est de 37,60 divisions du micromètre, soit 379 μ , contre 39,35 (397 μ) pour les deux lots témoins, t étant alors égal à 9,29, valeur hautement significative ($P < 0,001$) (fig. 8, A).

Comme nous pouvons le voir sur la figure 8, B, 0,25 μgr par litre d'argent provoquent un très léger décalage de la courbe de fréquence. La comparaison statistique des deux moyennes donne pour t une valeur de 2,19 significative ($P < 0,05$).

Par contre, l'addition de 0,1 μgr par litre ne semble pas avoir entraîné une diminution de la taille des plutéus. Le seuil de toxicité se situe donc à une teneur voisine de 0,25 μgr par litre d'argent.

Nous avons repris ces expériences en 1961, avec de l'eau de mer prélevée dans les mêmes conditions mais dont la teneur

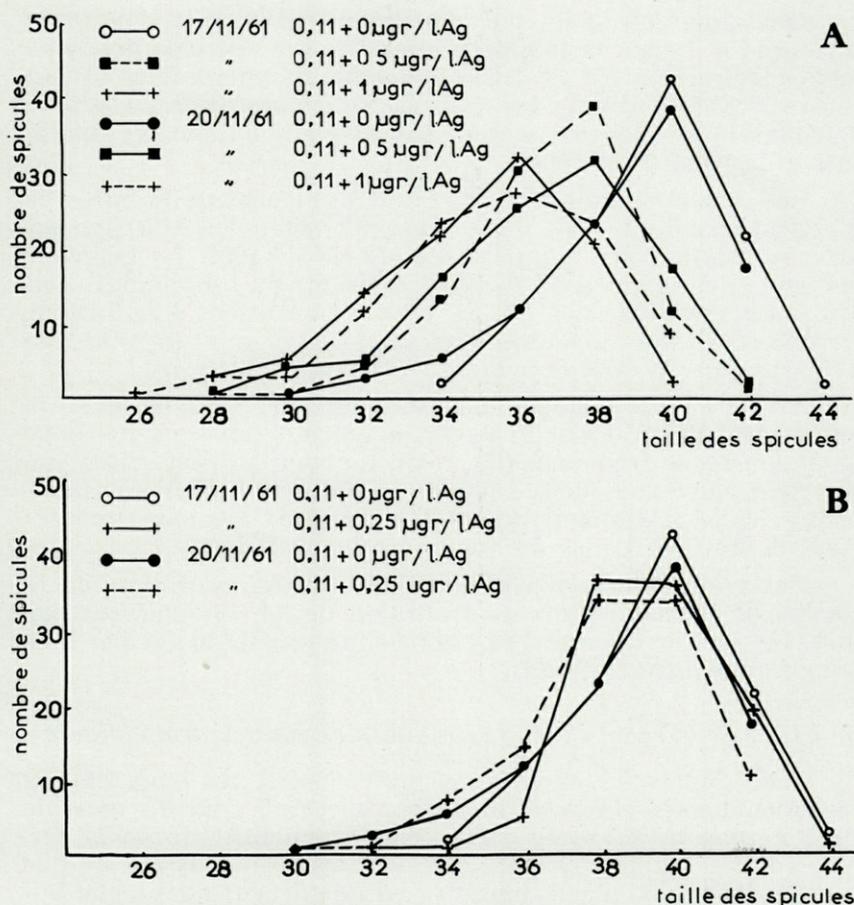


Fig. 9. — Effets de l'argent sur le développement de *Paracentrotus lividus* (concentration naturelle de l'eau de mer : 0,11 μgr d'Ag/l).

était déterminée par la réaction au dithizonate de cuivre telle que nous l'avons décrite plus haut. Cette eau était utilisée non filtrée.

Les concentrations en argent des eaux utilisées pour les deux séries d'essais du 17/11/61 et du 20/11/61 étaient identiques : les deux dosages effectués sur chaque prélèvement nous ont donné une teneur en argent de 0,110 μgr par litre. Nous avons ajouté à ces eaux des quantités de 1, 0,5, 0,25 et 0,1 μgr d'argent par litre. Les résultats obtenus sont comparables aux précédents et l'existence du seuil de toxicité vers 0,25 μgr par litre est confirmé.

Dans une eau ayant une teneur en argent de 1,11 μgr par litre (0,11 + 1 μgr), la longueur moyenne des spicules des deux lots expérimentés est de 36,06 divisions du micromètre (313 μ) contre 39,28 (396 μ) pour les témoins. La comparaison statistique des deux moyennes donne pour t une valeur hautement significative de 16,24 ($P < 0,001$).

Les résultats obtenus avec ces mêmes eaux additionnées de 0,5 μgr d'argent par litre, donc ayant une teneur de 0,610 μgr par litre, sont tout à fait comparables à ceux de 1960. La longueur moyenne des spicules est de 36,64 divisions du micromètre, soit 370 μ . La valeur de t , 11,48, est encore hautement significative. La différence des moyennes correspond environ à un retard de 2 heures dans le développement des pluteus (fig. 9, A).

L'addition de 0,25 μgr d'argent par litre, ce qui porte la teneur des eaux à 0,360 μgr par litre, entraîne un léger décalage de la courbe de fréquence (fig. 9, B). La comparaison statistique des deux moyennes donne pour t une valeur hautement significative de 6,73, la longueur moyenne des deux lots expérimentés étant de 38,95 divisions du micromètre, soit 393 μ .

Par contre, nous n'avons observé aucune variation de la courbe de fréquence lors de l'addition de 0,1 μgr d'argent par litre. Le seuil de toxicité serait donc situé vers 0,350 μgr par litre pour *Paracentrotus lividus*.

b) Effets de l'argent sur la fécondation de *Paracentrotus lividus*.

Dans toutes les expériences précédentes, les œufs étaient fécondés dans de l'eau de mer naturelle, puis répartis dans de l'eau de mer additionnée d'une certaine quantité de métal. Or, nous avons vu que certains auteurs avaient constaté que le sperme d'Oursin, placé dans des récipients en argent, perdait rapidement son pouvoir fécondant. Bien que travaillant dans des conditions très différentes de celles de ces auteurs, volume

d'eau de mer très supérieur et surtout moindre concentration, il nous a paru intéressant de déterminer si l'argent, aux teneurs indiquées, n'était pas capable d'inhiber la fécondation, et si celle-ci étant possible, l'action de ce métal n'était pas renforcée.

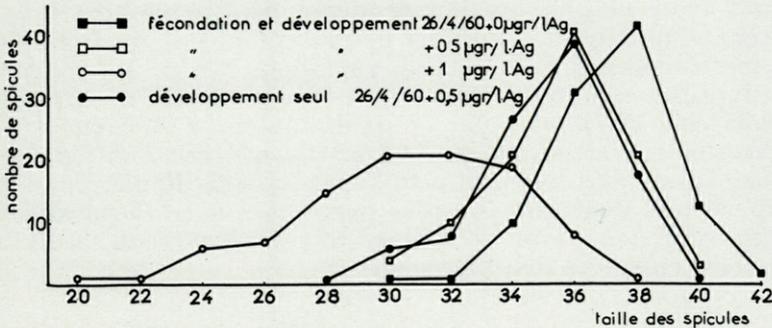


Fig. 10. — Effets de l'argent sur la fécondation de *Paracentrotus lividus*.

Les deux expériences que nous avons réalisées dans ce sens, nous ont montré qu'il n'en était rien. Ceci est bien visible sur la figure 10. Nous pouvons voir en effet que les œufs de *Paracentrotus lividus* fécondés dans l'eau de mer additionnée de 1, 0,5 et 0,25 µgr d'argent par litre, présentent un retard dans le développement tout à fait comparable à celui des lots de référence fécondés dans l'eau de mer naturelle, mais élevés dans l'eau de mer aux teneurs correspondantes. Des quantités d'argent égales ou inférieures à 1 µgr par litre n'empêchent donc pas la fécondation.

c) *Permanence des effets de l'argent sur le développement de Paracentrotus lividus.*

Il nous a paru également intéressant de déterminer si le retard observé dans la croissance au bout de 40 heures, se maintenait constant au cours du développement. Pour cela, nous avons adopté des temps d'élevage de 40, 50 et 60 heures. A la fin de chaque temps, nous avons établi les courbes de croissance d'un lot obtenu dans l'eau de mer additionnée de 1 µgr d'argent par litre et du lot témoin correspondant (fig. 11). Nous avons pu constater que l'écart entre les deux courbes, observé à 50 heures et 60 heures, était identique à celui existant dès 40 heures. Il semble donc, à la lumière de ces expériences, que le retard soit acquis de manière définitive. Nous n'avons pu augmenter la durée de nos expériences, car au delà de 60 heures, il devient nécessaire d'alimenter les pluteus.

d) Effets de l'argent sur le développement d'*Arbacia lixula*.

Nous savons que la sensibilité aux métaux lourds peut varier d'une espèce à l'autre, à l'intérieur d'un même groupe. Le fait a été démontré pour le cuivre par de nombreux auteurs et nous avons vu qu'il en était de même avec le mercure. Il semble cependant que les Echinidés ne présentent pas, ou alors dans une très faible mesure, de telles variations. En ce qui concerne le cuivre, les résultats obtenus par BOUGIS avec *Paracentrotus lividus*, ont été étendus par ce même auteur à *Arbacia lixula*, et WILSON et ARMSTRONG les ont retrouvés avec *Echinus esculentus*. Aussi, nous avons effectué avec *Arbacia lixula*, une série d'expériences analogues à celles pratiquées avec *Paracentrotus lividus*, de façon à voir s'il existait une différence de sensibilité à l'argent entre ces deux espèces.

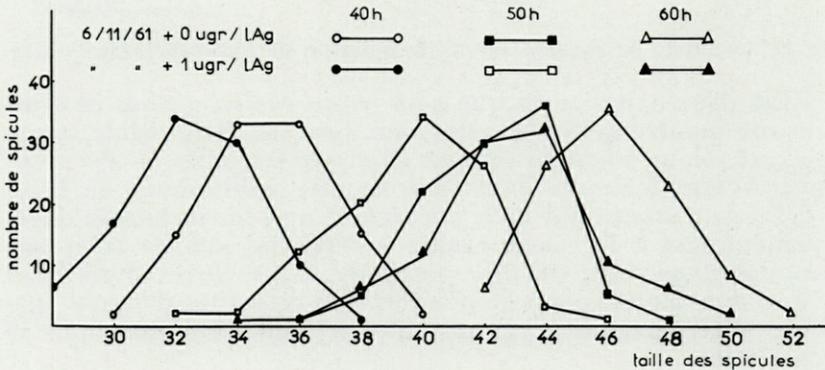


Fig. 11. — Permanence des effets de l'argent sur le développement de *Paracentrotus lividus*.

La méthode utilisée est la même que précédemment. Comme nous l'avons déjà signalé, nous avons dû allonger le temps d'expérimentation, de façon à obtenir des pluteus de taille suffisante.

Avec de l'eau de mer additionnée de 1 µgr d'argent par litre, les pluteus de deux lots expérimentés ont une longueur moyenne de 21,30 divisioins du micromètre (215 µ) contre 23,80 pour les témoins soit 240 µ. La comparaison statistique des deux moyennes donne pour *t* une valeur hautement significative de 11,36 ($P < 0,001$).

L'addition de 0,75 µgr d'argent par litre entraîne un retard net du développement : les pluteus ont une longueur moyenne (pour les deux lots) de 21,59 divisions du micromètre, soit 218 µ,

et la valeur de t obtenue en la comparant à la moyenne des témoins, s'élève à 9,61 ($P < 0,001$).

Comme nous pouvons le constater sur la figure 12, l'addition de 0,5 μgr par litre est à peine décelable. La moyenne des deux lots expérimentés est de 23,24 divisions du micromètre (234μ), mais la valeur de t , 2,80, n'est plus que significative ($P < 0,01$).

Quant à l'addition de 0,25 μgr d'argent par litre, elle n'entraîne aucune perturbation apparente dans le développement et la courbe de fréquence obtenue n'est pas décalée par rapport à celle des témoins.

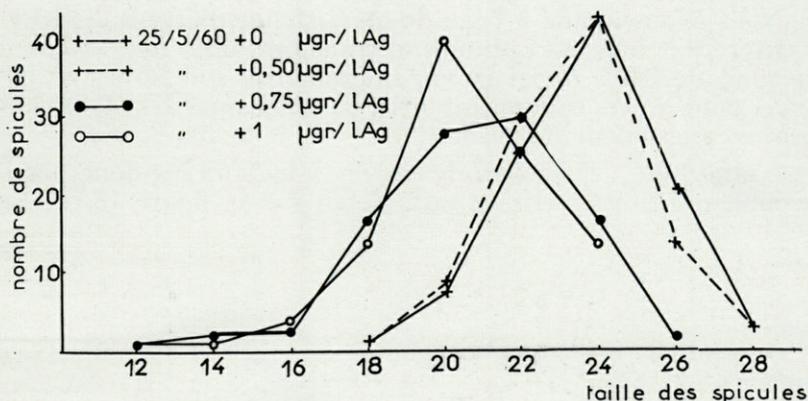


Fig. 12. — Effets de l'argent sur le développement d'*Arbacia lixula*.

Arbacia lixula aurait donc une résistance à l'argent, supérieure à celle de *Paracentrotus lividus*, le seuil de toxicité étant alors voisin de 0,5 μg par litre.

e) Additivité des actions biologiques de l'argent et du cuivre.

Dans cette partie de notre travail, nous avons étudié l'action conjuguée de l'argent et du cuivre. Nous avons utilisé la même méthode dans nos expériences : à l'eau de mer, nous avons ajouté de faibles quantités de cuivre, d'argent, puis de cuivre et d'argent, et nous avons étudié leur influence sur le développement de *Paracentrotus lividus*.

Lors de deux séries d'expériences (23/3/60 et 5/4/60), nous avons obtenu les résultats suivants :

Les longueurs moyennes des deux lots expérimentés dans l'eau de mer additionnée de 1 μgr d'argent ou de 20 μgr de cuivre par litre sont très voisins : respectivement, 30,36 divisions

(306 μ) et 30,94 divisions (311 μ). Les comparaisons statistiques de ces moyennes avec celles des témoins donnent pour t les valeurs hautement significatives de 16,35 et 16,57.

L'addition de 0,5 μ gr d'argent par litre, entraîne une diminution importante de la taille des pluteus dont la moyenne des longueurs s'élève alors à 34,22 divisions, soit 345 μ , ce qui donne pour t une valeur de 7,73. Le développement est affecté de façon à peu près identique par l'addition de 10 μ gr de cuivre par litre. Les pluteus des deux lots expérimentés ont une taille moyenne de 32,88 divisions, soit 332 μ , t étant alors égale à 12,12, valeur hautement significative ($P < 0,001$).

Nous avons ajouté à l'eau de mer, 0,5 μ gr d'argent et 10 μ gr de cuivre par litre. Les pluteus obtenus ont alors une longueur moyenne de 30,17 divisions du micromètre, soit 304 μ , ce qui donne pour t , en comparant avec la moyenne des deux lots témoins, une valeur de 19,16.

L'additivité des actions de ces deux métaux est donc pratiquement parfaite et elle apparaît bien sur la figure 13, A. En

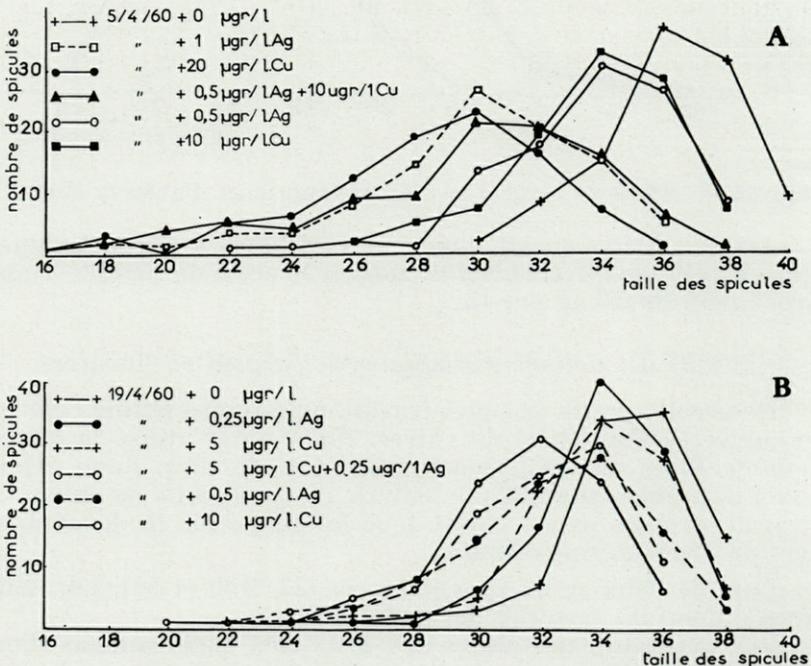


Fig. 13. — Effets d'un mélange argent-cuivre sur le développement de *Paracentrotus lividus*.

effet, la différence des moyennes dans ce dernier cas est à peu près identique à celle observée pour 1 μ gr d'argent ou 20 μ gr de cuivre par litre. Elle est également proche de la somme des différences des moyennes de la longueur des pluteus obtenus dans de l'eau de mer additionnée séparément de 0,25 μ gr d'argent et de 10 μ gr de cuivre par litre.

Nous avons repris ces expériences avec des quantités plus faibles de cuivre et d'argent (19/4/60). Nous avons pu également constater, comme cela est évident sur la figure 13, B, que l'additivité était pratiquement parfaite.

En effet, les pluteus obtenus dans de l'eau de mer additionnée de 10 μ gr de cuivre par litre, ont une taille moyenne de 31,50 divisions du micromètre (318 μ) contre 32,04 (327 μ) pour ceux élevés dans l'eau de mer additionnée de 0,5 μ gr d'argent par litre. Les pluteus obtenus dans la même eau additionnée de 5 μ gr de cuivre ou de 0,25 μ gr d'argent par litre, sont également de taille très voisine : 33,98 (343 μ) et 34,01 (343 μ).

Dans l'eau de mer à laquelle nous avons ajouté 5 μ gr de cuivre et 0,25 μ gr d'argent par litre, les pluteus atteignent une longueur moyenne de 31,80 divisions, soit 321 μ , comparable à celle obtenue avec 10 μ gr de cuivre ou 0,5 μ gr d'argent par litre. La différence observée entre la taille des témoins, 34,62 (350 μ) et celle des pluteus de ce dernier lot, est sensiblement égale à la somme des différences des moyennes de la taille des pluteus obtenus séparément avec chaque quantité de métal.

CONCLUSIONS

Au cours de notre travail sur l'action biologique de l'argent, nous avons mis au point une méthode d'analyse quantitative de l'argent dans l'eau de mer. Les résultats que nous avons obtenus nous ont montré que la concentration en argent des eaux de surface en Méditerranée devait être très faible (0,15 μ gr/l). Nous avons également étudié les effets biologiques de l'argent sur le développement des larves d'Echinides et nous avons mis en évidence :

- 1) la toxicité de l'argent à des doses faibles, tout à fait comparables aux concentrations observées dans l'eau de mer. Ce métal serait l'un des plus toxiques et, malgré sa présence en très petite quantité, pourrait jouer un rôle important. En effet, en comparant nos résultats avec ceux de Bougis obtenus avec le cuivre et le zinc sur le même matériel, nous avons pu voir que

l'argent se montrait 80 fois plus actif que le zinc, 20 fois plus que le cuivre et 10 fois plus environ que le mercure.

2) des variations de sensibilité à l'argent chez les Echinides; *Arbacia lixula* se montre beaucoup plus résistant que *Paracentrotus lividus*.

3) la possibilité d'une fécondation normale dans des eaux à concentrations en argent toxiques; l'action de l'argent avant la fécondation n'empêche nullement celle-ci de s'effectuer et n'augmente pas les effets du métal.

4) la persistance du retard dans le développement. Il serait cependant intéressant d'étudier l'action de l'argent pendant une durée supérieure à 60 heures de façon à confirmer cette hypothèse.

5) l'additivité parfaite des effets du cuivre et de l'argent. Ce fait est important car il montre qu'il est nécessaire en écologie d'envisager l'ensemble des métaux lourds. Nous avons vu dans notre historique que le mercure amplifiait l'action du cuivre; que l'étain, s'il inhibe l'action de l'argent sur la calcification du plutéus, provoquait d'autres troubles dans le développement. BOUGIS a montré que les effets du zinc, métal assez peu toxique mais relativement abondant, s'additionnent également à ceux du cuivre, du moins en ce qui concerne les larves d'Oursins. En contrepartie, ces métaux lourds peuvent être masqués dans leurs effets par certains composés chimiques qui les complexent. Ces complexants sont en général des acides aminés. Si la présence de telles substances n'a jamais été démontrée en eau de mer, PETERSON, FRED et DOMOGALLA ont reconnu l'existence de la cystéine dans l'eau de lac. Il est donc extrêmement probable que des complexants naturels de cette sorte existent dans l'eau de mer et masquent une fraction plus ou moins importante des métaux lourds et en particulier de l'argent.

Il faut donc faire une remarque importante : si les méthodes d'analyse courantes nous permettent de trouver en quelles proportions sont distribués les métaux lourds dans l'eau de mer, elles ne nous renseignent absolument pas sur la fraction de ces métaux biologiquement active.

Comme nous avons pu le constater lors de l'analyse des travaux d'HABER et de LIZUNOV et LYSITSYN, la teneur en argent augmente de façon considérable au voisinage des côtes. Bien que nous manquions de données à ce sujet, il est permis de penser qu'il doit également se produire un enrichissement de l'eau de mer en métaux lourds au contact du sédiment car celui-ci en contient des quantités relativement importantes. Il est donc

vraisemblable que l'argent joue un rôle important dans l'écologie des peuplements benthiques, côtiers et profonds, séparément ou associés à d'autres métaux lourds. Il serait intéressant d'étudier l'action de ce métal sur la faune interstitielle, qui vit dans des eaux particulièrement riches en métaux toxiques.

Il est également possible que l'argent intervienne dans l'écologie du plankton. BOUGIS, dans une publication sur les effets toxiques du cuivre, envisage l'hypothèse d'une explication de la différence entre les eaux « mauvaises » et les eaux « favorables », constatées par WILSON et ARMSTRONG, par les teneurs en cuivre de ces eaux. Il met en évidence le remarquable parallélisme qui existe entre les teneurs en cuivre des eaux de la station E₁ estimées par ATKINS (1953) et la présence, à cette même station, d'eaux « mauvaises » ou « favorables ». Ces eaux étant caractérisées par des populations planctoniques bien différentes, il serait intéressant de vérifier cette hypothèse en déterminant la teneur non seulement en cuivre mais aussi en argent de ces eaux. D'après une publication récente de WILSON et ARMSTRONG (1961), il semble que les métaux lourds et en particulier le cuivre ne soient pas les seuls à intervenir. Rien ne s'oppose cependant au fait que l'argent puisse jouer également un rôle dans l'écologie du plankton vu sa très grande toxicité.

Station Zoologique, Villefranche-sur-Mer

BIBLIOGRAPHIE

- BARNES, M. et STANBURY, F.A., 1948. — The toxic action of copper and mercury salts both separately and when mixed on the harpacticid copepod, *Nitocra spinipes* (Boeck). *J. Exp. Biol.*, **25** : 270-75.
- BARNES, H., 1959. — Apparatus and Methods of Oceanography I Chemical. *G. Allen and Unwin LTD Museum street London*.
- BLACK, W.A. et MITCHELL, R.L., 1952. — Trace elements in the common brown algae and sea water. *J. Marine Biol. Assoc. U. K.*, **30** : 575-84.
- BOHN, G. et DRZEWINA, A., 1928. — Les Convoluta : introduction à l'étude des processus physico-chimiques chez l'être vivant. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, **11** : 299-398.
- BOHN, G. et DRZEWINA, A., 1931. — Influence de l'argent métallique sur la calcification des larves d'oursins. *C.R. Acad. Sc.*, **193** : 491-93.
- BOONE, E. et BAAS BECKING (L.G.M.), 1931. — Salt effects on eggs and nauplii of *Artemia salina*. *J. Gen. Physiol.*, **14** : 753-763.
- BOUGIS, P., 1959. — Sur l'effet biologique du cuivre en eau de mer. *C.R. Acad. Sc.*, **249** : 326-28.
- BOUGIS, P., 1961. — Sur l'effet biologique du zinc en eau de mer. *C.R. Acad. Sc.*, **523** (4) : 740-741.
- BOUGIS, P., 1962. — Le cuivre en écologie marine. *Coll. Int. « Problemi ecologi delle zone littorali del Mediterraneo »*, Napoli.

- CHEVREUIL, 1859. — Présence de l'argent dans l'eau de mer : commentaire après une note de Malaguti. *C.R. Acad. Sc.*, **93**.
- CLARKE, G.L., 1947. — Poisonning and recovery in barnacles and mussels. *Biol. Bull.*, **92** (1) : 73-91.
- CLÉMENT, H., 1913. — Action de l'argent sur la végétation de l'*Aspergillus niger*. *C.R. Acad. Sc.*, **74** : 749-50.
- CODUR, J. et THIRY, G., 1913. — *Aspergillus* et argent métallique. *C.R. Soc. Biol.*, **74** : 486-87.
- CORNER, E.D.S. et RIGLER F.H., 1958. — The modes of action of toxic agents : Mercuric chloride and n amyl mercuric chloride on crustaceans. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **37** (1) : 85-96.
- CORNER, E.D.S. et SPARROW, B.M.W., 1956. — The mode of action of toxic agents. I : observations on the poisoning of certain crustaceans by copper and mercury. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **35** (3) : 531-48.
- CORNER, E.D.S. et SPARROW, B.M.W., 1956. — The mode of action of toxic agents. II : factors influencing the toxicities of mercury compounds to certain crustacea. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **36** : 459-72.
- CROGHAN, P.C., 1958. — The survival of *Artemia salina* in various media. *J. Exp. Biol.*, **35** (1) : 213-18.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1926. — Action de l'argent métallique sur le sperme et les larves d'oursins. *C.R. Acad. Sc.*, **182** : 1651-52.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1926. — Action antagoniste de l'argent et de l'étain métalliques sur les êtres vivants. *C.R. Acad. Sc.*, **183** : 571-72.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1926. — Activation par la lumière des effets de l'argent. *C.R. Acad. Sc.*, **183** : 677-78.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1927. — Effets tardifs de l'argent métallique sur les œufs d'oursins. *C.R. Soc. Biol.*, **97** : 1522-1524.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1929. — Action de l'étain sur les œufs et les larves d'oursins. *Arch. Anat. Microsc.*, **25** : 576-86.
- DRZEWINA, A. et BOHN, G., 1928. — Les Convoluta. *Ann. Scien. Nat. Zool.*, **11** : 299-398.
- FRASER, J.H., 1937. — The distribution of *Chaetognatha* in Scottish water in 1936 with notes on the scottish indicators species. *J. Cons. Int. Expl. Mer.*, **12** : 311-20.
- FRASER, J.H., 1952. — The chaetognata and other zooplankton of the Scottish area and their value as biological indicators of hydrographical conditions. *Scottish Home dept. Mar. Res.*, **2** : 1-52.
- GALTSOFF, P.S., 1932. — The life in the ocean from a biological point of vue. *Journ. Wash. Acad. Scien.*, **22** : 246-257.
- GOLDBERG, E.D., 1960. — Chemists and the oceans. *Chymia*, **6** : 162-179.
- GOLDSCHMIDT, V.M., 1937. — The principles and distribution of chemical elements in minerals and rocks. *J. Chem. Soc.*, 655-73.
- HABER, F., 1928. — Das Gold im Meerwasser. *Z. Ges. Erdk. Berlin*, **3** : 1-12.
- HABER, F. et JAENICKE, J., 1935. — Haber Untersuchungen über das Gold im Meere. *Naturwiss.*, **23** : 57.
- HARA J., 1958. — Colorimetric determination of silver by dithizone. *Bunseki Kagaku*, **7** : 142-47.
- HARVEY, H.W., 1955. — The chemistry and fertility of sea waters. Cambridge at the University Press.
- HITCHCOCK, R.D. et STARR, W.L., 1954. — Spectrographic technics as applied to the analysis of sea-water. *Appl. Spectroscopy*, **8** (1) : 5-17.
- HOADLEY, L., 1923. — Certains effets de the salts of heavy metals on the fertilisation reaction of *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull.*, **44** : 255-279.

- HOADLEY, L., 1930. — Some effects of $HgCl_2$ on fertilized and unfertilized eggs of *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull.*, 58 : 123-144.
- HUNTER, W.R., 1949. — The poisoning of *Marinogrammarus marinus* by cupric sulphate and mercuric chloride. *J. Exp. Biol.*, 26, 2 : 113-124.
- HUTCHINSON, G.S., 1957. — A treatise on Limnology. I. Geography, Physics and Chemistry, published by John Wiley and sons Inc. New York.
- IRVING, H.M.N.H., et ANDREW, G., 1949. — The absorptiometric determination of traces of metals. Reversion : a new procedure. *J. Chem. Soc.*, 537-41.
- IRVING, H.M.N.H., COOKE, J.J.H., WARDGER, S.C., WILLIAMS, R.J.P., 1949. — Studies with dithizone. Part II : Dithizone as a monobasic acid. *J. Chem. Soc.*, 1847-55.
- IRVING, H.M.N.H. and RIDSON, E.J., 1949. — Studies with dithizone. Part I : the determination of traces of Mercury. *J. Chem. Soc.*, 541-47.
- IRVING, H.M.N.H. and WILLIAMS, R.J.P., 1949. — Metal complexes and partition equilibria. *J. Chem. Soc.*, 1841-47.
- KOROLEFF, F., 1950. — Determination of traces of heavy metals in sea-water by means of dithizone. Thesis University of Helsingfors.
- KRAUSKOPF K.B., 1956. — Factors controlling the concentration of 30 rare metals in sea-water. *Geochem. and Cosmochem. Acta*, 9 : 1-32.
- LAROZE, A., 1955. — Some aspects of the effect of toxins on fish. *An. Fac. Farm. Porto*, 15 : 77-111.
- LILLIE, F.R., 1921. — Studies on fertilisation. X : the effects of copper salts on the fertilization reaction in *Arbacia* and a comparison of mercury effects. *Biol. Bull.*, 41 : 125-143.
- LIVERSIDGE, A.R., 1895. — On the amount of gold and silver in sea water. *J. Proc. Roy. Soc. N.S. Wales*, 29 : 335-49 et 350-66.
- LIZUNOV, N.V. et LISITSYN, A.P., 1955. — Spectrum-analysis data on the composition of the suspension in the Bering Sea. *Doklady Akad. Nauk. S.S.S.R.*, 104 : 593-96.
- MALAGUTI, 1859. — Présence de l'argent dans l'eau de mer. *C.R. Acad. Sc.*, 49 : 463-64.
- MALAGUTI, DUROCHER, 1859. — Observations relatives à la présence de l'argent dans l'eau de mer. *C.R. Acad. Sc.*, 49 : 536-37.
- MARTELL, A.E. et CALVIN, M., 1956. — Chemistry of Metal Chelate compounds. Prentice Hall Inc.
- MUNSTER, C.A., 1892. — « On the possibility of extracting precious metals from sea-water ». *Norsk. Tck. Tidssk.*, 10 : 13-20.
- NODDACK, I. et NODDACK, W., 1940. — Die Häufigkeiten der Schwermetalle im Meerestieren. *Ark. Zool.*, 32 (4) : 1-35.
- PYEFINCH, K.A. et MOTT, J.C., 1948. — The sensitivity of barnacles and their larvae to copper and mercury. *J. Exp. Biol.*, 25 : 276-98.
- RICHARDS F.A., 1956. — On the state of knowledge of trace elements in the Ocean. *Geochem. and Cosmochem. Acta*, 10 : 241-43.
- RICHARDS, F.A., 1957. — Some currents aspects of chemical Oceanography. *Physics and Chemistry of the Earth. Progress Series*, 2 : 77-128. Pergamon Press London.
- RICHET, 1881. — De la toxicité comparée des différents métaux. *C.R. Acad. Sc.*, 93 : 649.

- RILEY, G.A., 1943. — The toxicity of heavy metals to fouling organisms. Paper 12, 6^e Report from Woods-Hole Oceanographic Institution to the bureau of Ships.
- RUSSEL, H.W., 1950. — The poisoning of *Marinogammarus marinus* by cupric sulfate and mercuric chloride. *J. Exp. Biol.*, **26**: 113-24.
- RUSSEL, F.S., 1939. — Hydrographical and biological conditions in the North Sea as indicated by plankton organisms. *J. Cons. Int. Expl. Mer.*, **14**: 171-92.
- SANDELL, E.B., 1959. — Colorimetric Determination of traces of Metals. Interscience Publishers Inc., New York, 3.
- SAUTON, B., 1913. — Sur l'action antiseptique de l'or et de l'argent. *C.R. Soc. Biol.*, **74**: 1268-69.
- SNEDECOR, G.W., 1956. — Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. Iowa State College Press.
- STOCK, A. et CUCUEL, F., 1934. — Die Verbreitung des Quecksilbers. *Naturwiss.*, **22**: 390-93.
- SVERDRUP, H.U., JOHSON, M.W., FLEMING, R.H., 1942. — The Oceans; their physics, chemistry and general biology. Prentice Hall.
- WATERMAN, A.S., 1937. — Effect of salts of heavy metals on development of the sea urchin *Arbacia punctulata*. *Biol. Bull.*, **73** (3) : 401-20.
- WALNE, P.R., 1956. — Destruction of competitive organism on artificial oysters-spat collectors. *J. Cons. Int. Expl. Mer.*, **22**: 75-76.
- WICHMANN, H.J., 1939. — *Industr. Engin. Chem.*, **11**: 66.
- WILSON, D.P., 1951. — A biological difference between natural sea waters. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **30**: 1-26.
- WILSON, D.P. et ARMSTRONG, F.A.J., 1954. — Biological differences between sea-waters : experiments in 1953. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **33**: 347-60.
- WILSON, D.P. et ARMSTRONG, F.A.J., 1952. — Biological differences between sea-waters. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **31**: 335-49.
- WILSON, D.P. et ARMSTRONG, F.A.J., 1958. — Biological differences between sea-waters. *J. Marine Biol. Assoc. U.K.*, **37**: 331-48.
- WOLFF, H., 1954. — Untersuchungen über die Bestimmung von Zink mit Dithizon in biologischen Präparaten. *Bioch. Z.*, **325**: 267-79.

MÉTABOLISME DE L'AZOTE MINÉRAL EN MILIEU MARIN ⁽¹⁾

par Edmond LAGARDE

INTRODUCTION

Les phénomènes biologiques à participation bactérienne totale ou partielle sont, dans le milieu marin, infiniment nombreux. Parmi eux, il y a lieu de placer au premier plan les transformations des composés nitrés, auxquelles les bactéries contribuent pour une très large part.

Parmi les nombreux éléments présents dans la mer, l'azote est, avec le carbone et l'oxygène, un de ceux dont le taux présente quelquefois des variations très importantes, ces corps étant justement trois constituants indispensables au métabolisme microbien.

Divers auteurs cités par HARVEY (1945) évaluent ainsi les teneurs des eaux de mer en composés nitrés :

- azote ammoniacal .. 7-40 mg/m³ dans la Baltique,
plus de 60 mg/m³ au large de la Norvège,
30-50 mg/m³ dans l'Arctique.
- azote nitreux 7-30 mg/m³ dans l'Atlantique Sud,
4-8 mg/m³ dans les fjords norvégiens,
38 mg/m³ dans la Manche.

(1) Remis le 15 octobre 1962.

- azote nitrique 270 mg/m³ dans l'Arctique,
200-300 mg/m³ dans l'Atlantique
Nord,
400-600 mg/m³ dans l'Antarctique.
- azote organique 30-200 mg/m³.

En Méditerranée, DEVEZE (1959) trouve dans les eaux, les teneurs moyennes suivantes :

- azote ammoniacal 14,5 mg/m³.
- azote nitreux 2,6 mg/m³.
- azote nitrique 13,8 mg/m³.

alors que DUURSMA (1960) estime, dans la Mer du Nord, la teneur en N-NH₃ de 28 à 50 mg/m³, et met en évidence, dans l'Atlantique Nord, de 40 à 400 mg d'azote organique par tonne.

Les variations des teneurs des eaux de mer en composés nitrés sont donc très importantes, ainsi que le montrent les graphiques suivants empruntés à COOPER (1933) (fig. 1).

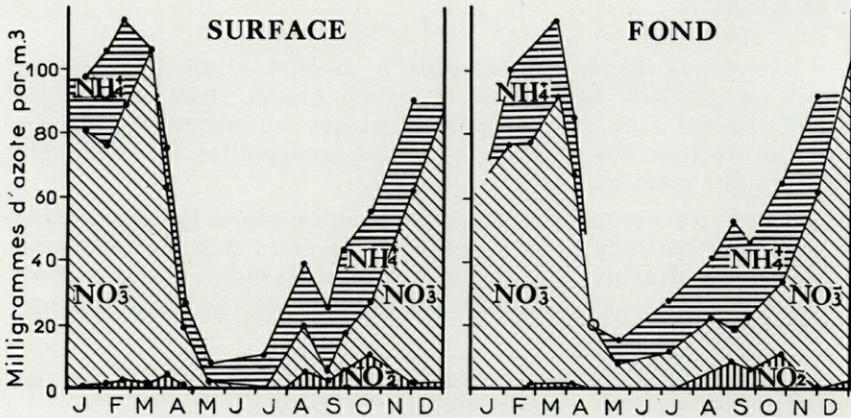


Fig. 1. — Variations durant l'année 1932, des teneurs en N-NO₃, N-NO₂ et N-NH₄ des eaux de la Manche, à 20 milles SW de Plymouth (In HARVEY, Recent Advantages in the Chemistry and biology of sea-water, 1945, Cambridge University Press).

L'azote joue ainsi un rôle capital dans l'accomplissement des processus biologiques au sein du milieu marin, et il limite, certainement de façon très importante, la productivité générale de la mer. Les bactéries sont, comme dans le sol, les agents par lesquels s'opèrent les transformations des composés nitrés, et

elles ont, en définitive, cinq processus d'action qui constituent le cycle de l'azote (fig. 2).

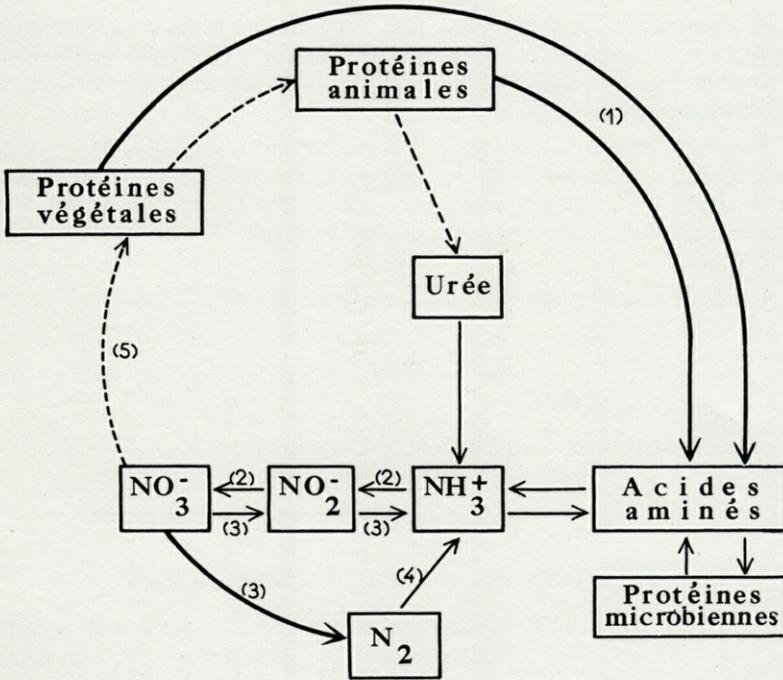


Fig. 2. — Cycle de l'Azote dans la mer. 1, Ammonification; 2, Nitrification; 3, Réduction du nitrate et dénitrification; 4, Fixation; 5, Assimilation.

- (1) libération d'azote sous forme d'ammoniaque (ammonification);
- (2) oxydation de l'ammoniaque en nitrite, puis en nitrate (nitrification);
- (3) réduction du nitrate en nitrite, ammoniaque ou azote gazeux (réduction du nitrate et dénitrification);
- (4) fixation de l'azote;
- (5) assimilation de l'azote minéral.

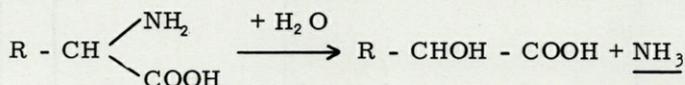
Les connaissances sur ce cycle sont encore très imparfaites, spécialement sur le plan écologique, et, ainsi que le souligne Wood (1958), on ne sait encore pas s'il y a gain net ou perte d'azote dans la mer.

AMMONIFICATION

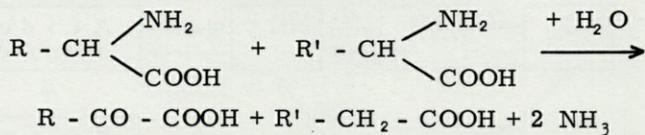
Au cours de l'ammonification, l'azote des résidus organiques animaux et végétaux est libéré sous forme d'ammoniaque. C'est un processus non spécifique, réalisé par un grand nombre de bactéries des eaux et des sédiments.

En fait, ainsi que le note POCHON (1958), l'étude de ce phénomène est complexe, car les substances azotées en cause sont très variées et toujours associées, dans les tissus végétaux tout au moins, à des composés carbonés tels que les celluloses, pectines, etc...

Le processus peut être réalisé, soit en aérobiose :

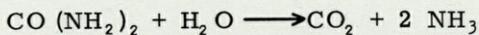


soit en anaérobiose (réaction de STICKLAND) :



WAKSMAN et RENN (1936), OSTROFF et HENRY (1939) ont montré que, sous l'effet des désaminases bactériennes, pratiquement tous les composés nitrés pouvaient être dégradés par les bactéries marines. Une partie de l'ammoniaque formé sert à l'édition des protéines cellulaires, l'autre partie en excès est libérée dans le milieu. Ces auteurs, ainsi que von BRAND et coll. (1937), ont établi que nombre de bactéries marines pouvaient décomposer rapidement « in vitro » les organismes du plancton et les algues en produisant des quantités importantes d'ammoniaque. C'est ainsi que lors du stockage de l'eau de mer à l'obscurité, on peut noter un accroissement de la multiplication bactérienne et une production d'ammoniaque (KEYS et coll., 1935; WAKSMAN et CAREY, 1935; ZOBELL et ANDERSON, 1936).

La libération d'ammoniaque peut également se faire à partir de l'urée, et ZOBELL et FELTHAM (1935) ont démontré la présence de germes uréolytiques dans tous les horizons marins prospectés, et spécialement dans la couche superficielle des vases de la zone euphotique où vivent de nombreux animaux uréocréteurs :



L'ammonification est ainsi un processus essentiellement biologique. Il est cependant difficile de se faire une idée précise des microorganismes constituant cette flore. Dans les sols, WAKSMAN et STARKEY (1931) reconnaissent comme ammonifiants tous les microorganismes (bactéries, champignons, actinomycètes) qui, en culture pure, libèrent de l'ammoniaque à partir de substances protéiques, et leur attribuent une pareille activité dans le sol. Pour S. WINOGRADSKY, au contraire, la réalisation du processus d'ammonification serait l'apanage de quelques espèces seulement, hautement spécialisées.

BRISOU et VARGUES (1961) ont examiné 131 souches bactériennes isolées du milieu marin ou de poissons ou coquillages marins. Sur ces 131 souches, 77 étaient protéolytiques, 77 réduisaient les nitrates, 51 avaient une double action, 26 n'avaient aucune action.

Parmi les genres bactériens susceptibles de réaliser le processus d'ammonification, il faut noter : des *Vibrio*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Empedobacter*, *Bacillus*, et également des *Actinomycètes* et des *Champignons*.

L'ammoniaque libéré au cours de l'ammonification peut :

1. reconstituer des cellules bactériennes, il sert alors de source d'azote pour la biosynthèse des protéines microbiennes.
2. servir de source d'azote à certains organismes du plancton, comme l'ont montré divers auteurs : BOND (1933), BRAARUD et FÖYN (1931), COOPER (1933), HARVEY (1935), SCHREIBER (1927), ZOBELL (1935).
3. être oxydé en nitrite et en nitrate.

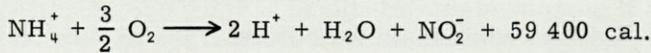
NITRIFICATION

Si l'ammonification est un processus très général et très peu spécifique, il n'en n'est pas de même pour la nitrification qui s'opère grâce à des microorganismes particuliers.

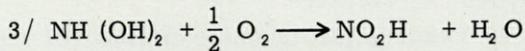
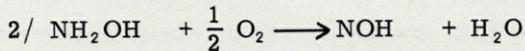
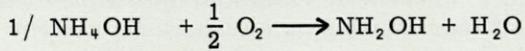
Le phénomène est connu depuis fort longtemps grâce à SCHLÖSSING et MUNTZ (1877-79) qui l'ont mis en évidence dans les eaux d'égouts et établi son origine biologique. WARINGTON (1891) ainsi que FRANKLAND (1890) montrent que le processus est réalisé en deux étapes par des microorganismes différents, isolés en culture pure par WINOGRADSKY (1890-91) qui définit leur autotrophie (1899).

La nitrification s'opère en deux temps :

a. *Nitritation* (ou nitrosation)

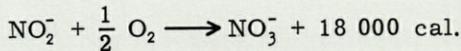


Cette réaction se fait en réalité par étapes et KLUYVER et DONKER (1926) supposent qu'il y a en fait trois stades :



Le premier stade a été vérifié par HOFMAN et LEES (1953) ainsi que par NICHOLAS et JONES (1960), les deux autres sont assez hypothétiques, les intermédiaires suggérés n'étant peut-être pas les seuls à intervenir dans la réaction.

b. *Nitratation*



Le bilan thermodynamique de ces deux réactions, est, comme l'a établi COOPER (1937), fortement exothermique, l'énergie libérée étant utilisée par les cellules bactériennes pour la synthèse de leur propre substance.

Les germes responsables de la nitrification appartiennent aux deux genres principaux :

- *Nitrosomonas*, pour le premier stade,
- *Nitrobacter*, pour le second.

Les représentants du genre *Nitrosomonas* (ou ferments nitreux) sont de petites cellules ovalaires (1,4 - 1,6 μ sur 0,9 - 1 μ), asporulées, mobiles ou immobiles selon les souches, les souches mobiles ayant une ciliature lophotriche ainsi que l'a montré RUBAN (1960); leur colorabilité est controversée, la plupart des auteurs les reconnaissent en effet comme Gram —, certains autres néanmoins les admettent comme Gram +.

Les bactéries appartenant au genre *Nitrobacter* (ou ferments nitriques) dont l'étude a été récemment complétée par ZAVARZIN (1959), sont représentées par des organismes ovalaires de petite taille (1 \times 0,8 μ), à Gram —, présentant des alternances de phases mobiles et immobiles; les formes mobiles possèdent un long flagelle latéral.

Ces représentants des genres *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* sont des germes aérobies stricts, ayant un pH optimum de culture légèrement alcalin (pH : 8,3 - 9), ils sont généralement con-

sidérés comme des autotrophes stricts, bien que certains résultats expérimentaux obtenus par KALINENKO (1953) aient pu en leur temps faire douter dans une certaine mesure de cette autotrophie. La source de carbone utilisée par ces bactéries est constituée par le C du CO₂ ou des carbonates, la source d'azote par l'ammoniaque pour *Nitrosomonas* et par le nitrite pour *Nitrobacter*. Certains oligo-éléments sont strictement requis : le phosphore et le magnésium (MEICKLEJOHN, 1952), le calcium (KINGMA BOLTJES, 1935), le cuivre et le fer (MEICKLEJOHN, 1953), le zinc ne semble pas indispensable (LEES et MEICKLEJOHN, 1948), et le manganèse serait même inhibiteur (MEICKLEJOHN, 1952).

Si le processus de nitrification est assuré principalement par les autotrophes *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, il semble établi maintenant que certains hétérotrophes libres ou associés avec des nitrificateurs vrais puissent oxyder les dérivés ammoniacaux. NECHAEVA (1947) a ainsi caractérisé un organisme apparenté à *Mycobacterium rubrum*, vivant en symbiose avec des nitrificateurs vrais. KALINENKO (1948) rapporte de même l'isolement, à partir d'horizons terrestres et marins de bactéries nitrifiantes hétérotrophes, ne se développant pas sur milieu minéral.

VERNON (1898) dans le golfe de Naples, BRANDT (1902) à Kiel, ISSATCHENKO (1914) dans l'Arctique, furent les premiers à isoler des nitrificateurs autotrophes d'horizons sédimentaires marins proches du rivage, mais toutes leurs recherches dans l'eau libre ou les sédiments profonds restèrent infructueuses, ce qui amena WAKSMAN et coll. (1933) à conclure à l'origine terrestre des bactéries nitrificatrices trouvées dans les zones marines de drainage terrestre. Semblable conclusion avait déjà été émise par GRAN (1903) et par NATHANSON (1906). Après de nombreuses recherches, BERKELEY (1919), LIPMAN (1922), HARVEY (1925) (1926) (1928) concluaient également à la présence de bactéries nitrificatrices dans les fonds, spécialement si ces derniers sont de nature sableuse et calcaire, et à leur absence en haute mer.

Il était tout de même assez étrange de considérer la nitrification comme étant le processus réalisé uniquement dans les sédiments, car la teneur la plus élevée en NH₃ du milieu marin se situe dans les eaux de surface, cet NH₃ provenant de la décomposition bactérienne des résidus animaux et végétaux. L'interprétation la plus fréquemment admise est que les eaux de surface, riches en NH₃, sont portées par des mouvements de convection jusqu'au fond où s'opère la nitrification; les nitrates seraient alors entraînés en sens inverse vers la surface où ils seraient consommés par les végétaux. RAKESTRAW (1936) et ZOBELL (1935) ont toutefois émis des doutes sur la valeur de cette théorie, faisant en particulier remarquer que le potentiel d'oxy-

do-réduction optimum pour la nitrification se situe dans la zone aérobie, entre + 0,3 et + 0,55 volt, cette condition est donc peu compatible avec les propriétés réductrices que présentent les sédiments peu après leur surface. De même, von BRAND et coll. (1942) ont constaté que les germes nitrificateurs sont pour la plupart inhibés par des températures de l'ordre de + 5° C qui règnent en général au niveau des fonds océaniques.

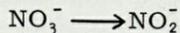
Il semble donc que la nitrification doive se produire à la surface des mers; la possibilité d'une oxydation photochimique de l'ammoniaque en nitrite et même en nitrate a été suggérée par ZOBELL (1933) et par RAKESTRAW et HOLLANDER (1936); elle n'explique cependant qu'en partie l'origine des nitrates dans la mer, étant donné qu'elle ne peut se dérouler que dans les couches d'eau les plus superficielles (ATKINS, 1932). Récemment, WATSON (1961) relatait par contre l'isolement en plein océan de nitrificateurs autotrophes, cette découverte remettrait donc en question le problème de l'origine des nitrates dans la mer.

DÉNITRIFICATION ET RÉDUCTION DES NITRATES

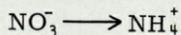
Le nitrate ainsi formé peut être assimilé directement par les organismes végétaux marins ou utilisé par les bactéries qui le transforment en composés nitrés réduits ou en substance cellulaire bactérienne. Cette étape de la dénitrification et de la réduction des nitrates en milieu marin a suscité de nombreux travaux. Elle est en effet fondamentale dans l'étude du cycle de l'azote et WOOD (1958) n'hésite ainsi pas à affirmer que la balance générale de l'azote dans la mer est étroitement liée aux processus de dénitrification et de fixation. Il semble, en tout état de cause, établi que la productivité générale de la mer dépend en grande partie des teneurs en phosphate et en nitrate du milieu marin (HARVEY, 1945).

A l'inverse des nitrificateurs, peu nombreux et très spécialisés, les bactéries dénitrificatrices et réductrices des nitrates sont, elles, très nombreuses et très diverses. Il est généralement convenu d'en distinguer trois groupes distincts :

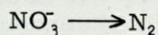
a) les bactéries qui réduisent les nitrates en nitrites :



b) les bactéries qui réduisent les nitrates en ammoniaque :

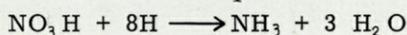


c) les bactéries qui réduisent les nitrates en azote :



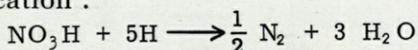
Le mécanisme de la réduction des nitrates et de la dénitrification est encore mal connu.

La réduction de l'azote nitrique en ammoniacque :



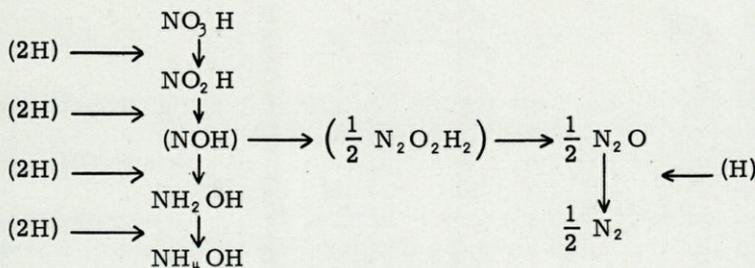
correspond à la fixation de 8 atomes d'hydrogène.

La dénitrification :



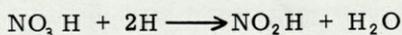
correspond à l'échange de 5 atomes d'hydrogène.

De même que lors de la nitrification, ces divers processus procèdent par étapes, qui comportent chacune l'échange de 1 ou 2 atomes d'hydrogène, et KLUYVER (1953) proposa ainsi le schéma suivant, expliquant le mécanisme de la réduction des nitrates et de la dénitrification :



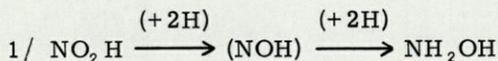
(emprunté à KLUYVER, 1953).

Parmi ces étapes, la seule qui soit bien connue est la réduction du nitrate en nitrite :



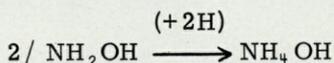
réalisée par une enzyme spécifique, la nitrate-réductase, extraite par NASON et EVANS (1953), à partir de moisissures (*Neurospora crassa*), de végétaux (graine de soja), de bactéries (*Rhizobium japonicum*), enzyme adaptative pour la synthèse de laquelle le molybdène est indispensable.

Certaines bactéries poursuivent la réduction du nitrite en ammoniacque et l'on peut considérer ici deux étapes :



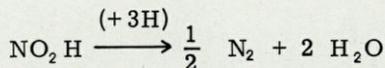
s'effectuant elle-même, selon KLUYVER en deux stades par l'intermédiaire du nitroxyde (NOH). Cette étape est très importante,

car elle représente le stade au cours duquel la réaction bifurque, soit vers l'ammoniaque, soit vers l'azote gazeux. L'enzyme responsable serait la nitrite-réductase, mise en évidence par NASON et EVANS (1953), pour la synthèse de laquelle le manganèse serait indispensable.



Cette dernière étape est, selon divers auteurs (MEDINA et NICHOLAS, 1957) (SPENCER, TAKAHASHI et NASON, 1957), catalysée par l'hydroxylamine-réductase, une flavo-métallo-protéine présentant des analogies avec la nitrite-réductase, mais distincte cependant de celle-ci.

La réduction du nitrite en azote (dénitrification vraie) :



correspondant à l'échange de 3 atomes d'hydrogène, relève d'un processus extrêmement mal connu. Divers intermédiaires ont été évoqués, le premier pourrait être le nitroxyle (NOH), qui se dimériserait spontanément en acide hyponitieux ($\text{N}_2\text{O}_2\text{H}_2$); le mode de passage entre ce polymère et l'azote gazeux est inconnu. D'autres intermédiaires pourraient être néanmoins invoqués, ainsi que l'ont souligné récemment FEWSON et NICHOLAS (1961).

La microflore dénitrifiante et réductrice des nitrates est largement représentée en milieu marin, à la fois dans l'eau et dans les sédiments. Sur les 60 espèces nouvelles décrites en 1944 par ZOBELL et UPHAM (1944), 34 en effet réduisaient les nitrates en nitrites, deux seulement les réduisaient en azote. BRISOU et VARGUES (1961), étudiant 131 souches isolées d'eaux, de vases ou de poissons de mer, montrent que 77 d'entre elles réduisent les nitrates, ces germes appartenant aux genres *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*. LAGARDE (1961) a évalué récemment l'importance de la microflore totale dénitrifiante, dans des eaux et des sédiments prélevés dans des zones littorales de la Méditerranée. Cette microflore, dans les horizons prospectés, représentait de 0,25 à 26,8 % de la microflore aérobie totale. 72 souches microbiennes ont été isolées lors de cette étude, appartenant aux genres : *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Bacillus*. 17 souches réduisaient le nitrate en nitrite, 53 le réduisaient en ammoniaque, deux seulement réduisaient le nitrate en azote. SREENIVASAN et VENKATARAMAN (1956), étudiant la microflore dénitrifiante des

eaux baignant la côte Sud de l'Inde, isolent des souches réduisant les nitrates en nitrites et en azote, qu'ils classent toutes dans le genre *Pseudomonas*.

Les bactéries qui réduisent les nitrates en nitrites et même en ammoniacque n'ont dans la mer qu'une importance écologique relative, car, ainsi que l'ont montré divers auteurs (von BRAND et coll., 1937, 1942; BOND, 1933; BRAARUD et FÖYN, 1931; COOPER, 1933; HARVEY, 1933; SCHREIBER, 1927; ZOBELL, 1935), les organismes phytoplanctoniques sont capables d'utiliser l'ammoniacque, le nitrite ou le nitrate; l'activité de ces bactéries n'influe donc pas de manière sensible sur la fertilité générale de l'océan.

Les bactéries dénitrificatrices vraies ($\text{NO}_3 \rightarrow \text{N}_2$) sont infiniment plus rares (ZOBELL et UPHAM, 1944; LAGARDE, 1961). Théoriquement cependant, les organismes de ce groupe ont une grande importance sur le plan écologique, car leur activité tend à appauvrir le milieu en azote assimilable. On peut se demander pourtant si cette activité « in situ » est très grande, COOPER (1937) a montré en effet que la réduction du nitrate en azote est une réaction fortement endothermique, qui requiert un apport d'énergie considérable. Elle se produira par conséquent dans les horizons marins riches en matières organiques utilisables pour le métabolisme bactérien, plus spécialement dans les couches superficielles des sédiments (LAGARDE, 1961).

Quoiqu'il en soit, la perte azotée qui résulte dans la mer de la dénitrification est, théoriquement du moins, compensée par les activités des fixateurs d'azote.

FIXATION DE L'AZOTE

Si les végétaux et les animaux sont incapables de métaboliser l'azote atmosphérique, certains microorganismes possèdent un équipement enzymatique leur permettant de l'utiliser pour leurs synthèses protéiques.

Dans le sol, les microorganismes fixateurs peuvent être :

- des bactéries libres (aérobies, anaérobies, photosynthétiques) ou symbiotiques (*Rhizobium*);
- ou des algues.

Dans la mer, la fixation de l'azote s'accomplit grâce à des germes libres (aérobies et anaérobies) et à des algues, la présence de microorganismes symbiotiques n'ayant encore été rigoureusement démontrée.

Les fixateurs aérobies

Les fixateurs aérobies sont très répandus dans le milieu marin. Parmi eux, les représentants du genre *Azotobacter*, dont l'espèce type est *Azotobacter chroococcum* sont les plus importants. Bien que ces microorganismes aient servi de matériel à de très nombreuses études, leur morphologie est à l'heure actuelle encore très mal connue. Elle présente en effet de véritables cycles évolutifs dont l'étude a été entreprise par LÖHNIS et SMITH (1923), S. WINOGRADSKY (1926) (1938) et plus récemment par POCHON et TCHAN (1948), ainsi que JENSEN (1954).

Le cycle évolutif d'*Azotobacter chroococcum* est schématisé par POCHON de la façon suivante :

— les formes jeunes sont représentées par des bâtonnets de $2 \times 4 \mu$ mobiles (ciliature péritriche) ;

— les formes adultes qui en dérivent sont de gros cocci sphériques, ayant un diamètre de 2 à 4 μ , immobiles, contenant de nombreuses granulations (lipides, volutine, glycogène, etc.) ;

— les formes vieilles sont des kystes à coque épaisse, qui peuvent germer et donner à nouveau la forme initiale.

D'autres modes de reproduction plus complexes ont été décrits par BISSET et HALE (1953), et par DONDERO et ZELLE (1953) notamment.

Les *Azotobacter* sont des germes à Gram négatif, aérobies stricts. Il est cependant établi maintenant qu'ils peuvent supporter des tensions réduites d'oxygène, ainsi que l'ont montré PARKER et SCUTT (1954) (1958) (1960), ainsi que TSCHAPEK et GIAMBAGI (1955). Dans ces conditions, la fixation apparaît, pour certaines souches tout au moins, plus efficace.

Ces microorganismes hétérotrophes sont, vis-à-vis de leurs sources carbonées, extrêmement polyvalents, un grand nombre de composés peuvent en effet être utilisés par ces germes, comme source d'énergie et de carbone nécessaire aux synthèses cellulaires : des alcools, des sels d'acides organiques, des glucides, des polyosides, etc... Cependant, certaines substances trouvées en quantités importantes dans certains sédiments marins, du type cellulose, hémicellulose, composés humiques, ne sont pas directement attaquées par les *Azotobacter*.

Le problème de la nutrition azotée de ces germes est plus simple : en l'absence d'azote combiné, ils fixent l'azote moléculaire, et le rendement de fixation est évalué en culture par le rapport :

$$\text{rendement de fixation} = \frac{\text{Quantité d'azote fixé}}{\text{Quantité de carbone consommé}}.$$

Ce rendement est en général faible (de l'ordre de 1 %) et varie suivant l'âge, l'état de la souche et la nature de la source carbonée fournie.

Le nitrate à doses faibles stimule la fixation, et inhibe celle-ci à des concentrations plus fortes (supérieures à 100 mg de NO_3 par litre), mais est sans effet sur la croissance.

Les besoins minéraux varient avec la source d'azote, mais d'une façon générale sont indispensables : calcium, phosphore, fer, magnésium, molybdène.

La fonction de fixation de l'azote a été reconnue par ailleurs chez de nombreux microorganismes. Des représentants des genres *Pseudomonas* et *Achromobacter* fixant l'azote ont été décrits par ANDERSON (1955), JENSEN (1958), PROCTOR et WILSON (1958) (1959), VOETS (1955); des *Bacillus* fixateurs ont été également isolés par BREDEMAN (1908), FULMER et FRED (1917), HINO et WILSON (1958), ainsi que des *Spirilles* (RODINA, 1956), des *Actinomycètes* (FEDOROV et ILINA, 1959), des *Levures* (BROWN et METCALFE, 1957), des *bactéries photosynthétiques* (GEST et KAMEN, 1949) (LINDSTRÖM et coll., 1949, 1951) (PRATT et FRENKEL, 1959).

La grande majorité des germes reconnus fixateurs aérobies possèdent dans leur équipement enzymatique des hydrogénases, ce qui semblerait confirmer la thèse de LINSTRÖM selon laquelle toute bactérie pourvue d'une hydrogénase était capable de fixer l'azote moléculaire; néanmoins, des bactéries possédant cette enzyme ne sont pas fixatrices.

Les fixateurs anaérobies.

Relativement peu d'espèces bactériennes anaérobies semblent douées du pouvoir de fixation de l'azote, en milieu marin.

La première souche fixatrice étudiée fut l'anaérobie *Clostridium pastorianum*, isolée par WINOGRADSKY (1893). C'est un bacille de 1,5 à 8 μ de longueur sur 0,8 à 1,3 μ de largeur, à extrémités arrondies, mobile (ciliature péritriche), à Gram positif, sporulé (la spore, ovale, déformante, mesure de 1,3 à 1,6 μ).

Ce germe, anaérobie strict, est un organisme polyphage, utilisant comme source de carbone un nombre important de composés : glucose, maltose, saccharose, glycérol, etc..., mais pas la cellulose. En l'absence d'azote combiné, il fixe l'azote moléculaire, mais les rendements de fixation sont, comme pour *Azotobacter*, assez faibles. Le molybdène a également une action favorisante sur la fixation.

D'autres bactéries anaérobies ont été reconnues fixatrices

d'azote : ROSENBLUM et WILSON (1949) ont ainsi étudié nombre de souches appartenant au genre *Clostridium*, mais la présence de ces organismes, bien que très possible, reste à démontrer dans le milieu marin.

Il est intéressant de noter enfin que des représentants du genre *Desulfovibrio*, qui réduisent les sulfates en H_2S , sont également doués du pouvoir de fixation de l'azote, ainsi que l'ont établi SISLER et ZO BELL (1951), puis LE GALL, SENEZ et PICHINOTY (1959).

Les algues fixatrices.

Certaines *Myxophycées* sont, elles aussi, en l'absence d'azote combiné, capables de fixer l'azote moléculaire. Ce pouvoir, soupçonné par FRANK (1889), a été étudié par de nombreux auteurs : DREWES (1928), BURRIS (1932), ALLISON (1937), BURRIS et WILSON (1946). DREWES (1928) a ainsi montré que des cultures pures de *Nostoc punctiforme* et d'*Anabaena variabilis* pouvaient fixer 2 à 3 mg d'azote en 50 jours, dans 250 ml de milieu. De même, ALLISON (1937) a établi que *Nostoc muscorum* fixait jusqu'à 18 mg d'azote en 85 jours, dans 100 ml de milieu.

Ces exemples suggèrent l'importance probable de la fixation de l'azote par les algues, dans la mer, comme le souligne ALLEN (1961) dans un récent travail, mais les démonstrations expérimentales en sont encore très fragmentaires.

Le mécanisme de la fixation est encore très mal connu, encore qu'il ait été établi maintenant de façon certaine que l'enchaînement des réactions passe par l'ammoniaque; cet intermédiaire a été en effet mis en évidence, aussi bien avec des extraits acellulaires (CARNAHAN et coll., 1960) qu'avec des cellules intactes (ZELITCH et coll., 1951) (NEWTON et coll., 1953) de germes fixateurs, *Azotobacter* et *Clostridium pastorianum* en l'occurrence. D'autres intermédiaires tels que l'hydrazine, l'hydroxylamine ont été évoqués, mais leur formation n'a pu être démontrée (CARNAHAN et coll., 1960).

Des microorganismes fixateurs d'azote furent mis en évidence pour la première fois dans la mer par BENECKE et KEUTNER (1903). Ils trouvèrent ainsi d'abondantes populations d'*Azotobacter* dans les zones à plancton, ce qui laissa croire à REINKE (1903) à une symbiose entre les organismes du phytoplancton et des algues et la bactérie, et *Clostridium pastorianum* fut mis en évidence dans les eaux profondes et les sédiments de diverses mers froides ou chaudes du globe. KEUTNER (1905) en concluait que ces organismes sont des hôtes normaux du milieu marin.

L'existence de fixateurs d'azote spécifiquement marins, contestée par certains auteurs (KORINEK, 1932); LLOYD, 1930), a été cependant reconnue par la majorité des chercheurs, dans tous les océans prospectés (ISSATCHENKO, 1914; WAKSMAN et coll., 1933; KRISS, 1959; KRISS et coll., 1952; ZARMA, 1958; PSHENIN, 1959; SOUSCHKINA, 1949), encore que WOOD (1958) ait récemment émis quelques réserves sur l'indigénicité de souches d'*Azotobacter* isolées par lui d'horizons marins voisins des côtes australiennes.

Signalons enfin la description par PSHENIN (1959) de formes bactériennes ressemblant à des *Rhizobium*, et trouvées par cet auteur dans des thalles de *Phyllophora*. Si cette découverte était confirmée, il est certain qu'elle remettrait en question l'existence dans la mer de fixateurs symbiotiques, non encore prouvée formellement à l'heure actuelle.

La fixation de l'azote requiert une énergie importante, les germes responsables se trouveront par conséquent là où ils disposeront d'une quantité importante de matière organique, et ce, en milieu marin, dans des zones bien déterminées. Divers auteurs (KEDING, 1906; ISSATCHENKO, 1914; BAVENDAMM, 1931; WAKSMAN et coll., 1933; ZARMA, 1958; PSHENIN, 1959) ont établi que les fixateurs aérobies sont trouvés presque exclusivement en surface, au voisinage des algues et dans les couches superficielles des sédiments; les fixateurs anaérobies prédominent par contre dans les couches profondes des sédiments, où ils paraissent seuls actifs.

Le rôle joué effectivement par la microflore azo-fixatrice dans les conditions naturelles est difficile à apprécier, et il fait l'objet de sérieuses réserves. Selon WAKSMAN et coll. (1933), l'humus marin serait trop pauvre en substances énergétiques pour que *Clostridium pastorianum* puisse y exercer une activité appréciable. Le problème est peut-être différent pour les fixateurs aérobies, associés étroitement aux végétaux marins et disposant là de ressources en carbohydrates. Les conclusions de VON BRAND et coll. (1942) sont plus catégoriques encore puisque ces auteurs nient à la fixation bactérienne une quelconque importance en milieu marin.

Quoiqu'il en soit, et puisque les données concernant ces problèmes restent peu précises, force nous est d'espérer que les techniques modernes, écologiques et biochimiques en particulier, permettront de résoudre ces problèmes.

Centre National de la Recherche Scientifique,
Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN, M.B., 1961. — Nitrogen Fixing Organisms in the Sea. *Symposium of Marine Microbiology*, Chicago.
- ALLISON, F.E., 1937. — *Bot. Gaz.*, **98** : 433.
- ANDERSON, G.R., 1955. — *J. Bact.*, **70** : 129-133.
- ATKINS, W.R.G., 1932. — *J. Cons. int. explor. Mer.*, **7** : 171.
- AUDOYNAUD, A., 1875. — *C.R. Acad. Sci.*, **81** : 619.
- BAVENDAMM, W., 1931. — *Ber. deutsch. Bot. Ges.*, **49** : 282-287.
- BEIJERINCK, M.W., 1890. — *Meddel. K. Akad. Wetensch.*, **7** : 239.
- BENECKE, W. et KEUTNER, J., 1903. — *Ber. deutsch. Bot. Ges.*, **21** : 333.
- BERKELEY, C., 1919. — *Trans. Roy. Soc. Canada*, **13** : 15.
- BISSET, K.A. et HALE, C.M., 1953. — *J. Gen. Microb.*, **8** : 442-448.
- BOND, R.M., 1933. — *Bull. Bingham Ocean. Coll.*, **4** : 1-89.
- BRAARUD, T. et FOYNS, B., 1931. — *Avhandl. Norsk. Vid. Akad. i Oslo*, **14** : 1-24.
- BRANDT, K., 1899. — *Wiss. Meeresunter. Abr. Kiel*, **4** : 213-230.
- BRANDT, K., 1902. — *Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel, N.F.*, **6** : 23-79.
- BREDEMAN, 1908. — *Zbl. f. Bakt.*, **II**, **22** : 44.
- BRISOU, J. et VARGUES, H., 1961. — Proteolysis and nitrate reduction in sea water (*Symposium of Marine Microbiology*, Chicago)..
- BROWN, M.E. et METCALFE, G., 1957. — *Nature*, **180** (4580) : 282.
- BURRIS, R.H., 1932. — *Proc. Soil. Sci. Soc. Amer.*, **7** : 258.
- BURRIS, R.H. et WILSON, P.W., 1946. — *Ann. Rev. Bioch.*, **108** : 254.
- CARNAHAN, J.E., MORTENSON, L.E., MOWER, H.F. et CASTLE, J.E., 1960. — *Bioch. Biophys. Acta*, **44** : 520-535.
- COOPER, L.H.N., 1933. — *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **18** : 677; **19** : 55.
- COOPER, L.H.N., 1937. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **22** : 183-204.
- DEVÈZE, L., 1959. — *Rec. Trav. Stat. Mar. Endoume*, **25** (15).
- DONDERO, N. et ZELLE, M., 1953. — *Science*, **118** : 34-36.
- DREWES, K., 1928. — *Zbl. f. Bakt.*, **II**, **76** : 88.
- DUURSMAN, E.K., 1960. — *Netherl. J. Sea Res.*, **1** (1/2) : 1-148.
- FEDOROV, M.V. et ILINA, T.K., 1959. — *Mikrobiologiya*, **28** (4) : 541-7.
- FEWSON, C.A. et NICHOLAS, D.J.D., 1961. — *Nature*, **190** (4770) : 2-7.
- FISCHER, B., 1894. — *Ergebnisse des Plankton Exp. der Humboldt Stift.*, **4** : 1-83.
- FRANK, 1889. — *Ber. Deutsch. Bot. Gaz.*, **7** : 34.
- FRANKLAND, P.F. et FRANKLAND, G., 1890. — *Trans. Roy. Soc. London*, **181** : 107.
- FULMER, H.L. et FRED, E.B., 1917. — *J. Bact.*, **2** : 422.
- GEST et KAMEN, 1949. — *Science*, **109** : 538.
- GEST et KAMEN, 1949. — *J. Bact.*, **58** : 239.
- GRAN, H.N., 1901. — *Bergens Mus. Aarb.*, **10** : 1.
- GRAN, H.N., 1903. — *Naturen. Bergen.*, **27** : 33.
- HARVEY, H.W., 1925. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **13** : 953.
- HARVEY, H.W., 1926. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **14** : 71.
- HARVEY, H.W., 1928. — *Biological Chemistry and Physics of Sea Water*, Cambridge University Press.
- HARVEY, H.W., 1933. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **19** : 253-276.
- HARVEY, H.W., 1945. — *Recent advances in the Chemistry and Biology of Sea water*, Cambridge University Press.
- HINO, S. et WILSON, P., 1958. — *J. Bact.*, **75** (4) : 403-8.
- HOFMAN, T. et LESS, H., 1953. — *Bioch. J.*, **54** : 579.

- ISSATCHENKO, B.L., 1914. — Recherches sur les Bactéries de l'Océan Glacial Arctique. Monographie Petrograd, 300 p.
- JENSEN, H.L., 1954. — *Bact. Rev.*, **18** : 195-213.
- JENSEN, H.L., 1958. — *Arch. Mikrobiol. Dtsch.*, **29** (4) : 348 B.
- KALINENKO, V.O., 1948. — *Pochvovednie*, 357-63.
- KALINENKO, V.O., 1953. — *Dokladi. Akad. Nauk. SSSR*, **92** : 161.
- KEDING, M., 1906. — *Wiss. Meeresunters. Abt. Kiel, NE*, **9** : 273-309.
- KEUTNER, J., 1905. — *Wissen. Meeresunters. Abt. Kiel*, **8** : 27.
- KEYS, A., CHRISTENSEN, E.H. et KROGH, A., 1935. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **20** : 181-196.
- KINGMA BOLTJES, 1935. — *Arch. Mikrobiol.*, **6** : 79.
- KLUYVER, A.J. et DONKER, H.J.L., 1926. — *Chem. Zelle*, **13** : 134.
- KLUYVER, A.J., 1953. — Symposium Metabolismo Microbico, Roma. *Thomas Publis. Springfield*, **3**.
- KORINEK, J., 1932. — *Centabl. f. Bakt.*, II Abt., **86** : 201.
- KRISS, A.E., MARKIANOVITCH, E.M. et ROUKINA, E.A., 1952. — *Trav. Stat. Biol. Sebastopol*, **8** : 220-287.
- KRISS, A.E., 1959. — *Morskaya Mikrobiologiya*, Moscou.
- LAGARDE, E., 1961. — Microflore dénitrifiante de certaines zones littorales méditerranéennes. Congrès Ecologie Marine, Naples (sous presse).
- LEES, H. et MEICKLEJOHN, J., 1948. — *Nature*, **161** : 398.
- LE GALL, J., SENEZ, J.C. et PICHINOTY, F., 1959. — *Ann. I.P.*, **96** : 223-230.
- LINDSTROM, BURRIS, R.H. et WILSON, 1949. — *J. Bact.*, **58** : 313.
- LINDSTROM, LEWIS et PINSKY, 1951. — *J. Bact.*, **61** : 481.
- LIPMAN, C.B., 1922. — *Science*, **56** : 501.
- LLOYD et BLODWEN, 1930. — *J. Mar. Biol. Ass.*, **16** : 879.
- LÖHNIS, F. et SMITH, N.R., 1923. — *J. Agr. Res.*, **23** : 401-32.
- MEDINA, A. et NICHOLAS, D.J.D., 1957. — *Nature*, **179** : 533.
- MEDINA, A. et NICHOLAS, D.J.D., 1957. — *J. Gen. Microb.*, **17** (5).
- MEDINA, A. et NICHOLAS, D.J.D., 1957. — *Bioch. Biophys. Acta*, **25** : 138.
- MEICKLEJOHN, J., 1952. — *Nature*, **170** : 1131.
- MEICKLEJOHN, J., 1953. — *J. Gen. Microb.*, **8** : 58.
- NASON, A. et EVANS, H.J., 1953. — *J. Biol. Chem.*, **202** : 655.
- NATHANSON, A., 1906. — *Abh. Math., Phys. Kl. Kgl. Sächs. Ges. Wiss.*, **29** : 335.
- NECHAEVA, B., 1947. — *Mikrobiologiya*, **16** : 418-28.
- NEWTON, J.W., WILSON, P.W., et BURRIS, R.H., 1953. — *J. Biol. Chem.*, **204** : 445.
- NICHOLAS et JONES, 1960. — *Nature*, **165** : 512.
- OSTROFF et HENRY, B.S., 1939. — *J. Cell. Comp. Physiol.*, **13** : 353-71.
- PARKER, C.A., 1954. — *Nature*, **173** : 780.
- PARKER, C.A. et SCUTT, P.B., 1958. — *Bioch. Biophys. Acta*, **29** (3) : 662.
- PARKER, C.A. et SCUTT, P.B., 1960. — *Bioch. Biophys. Acta*, **38** (2) : 230-8.
- POCHON, J. et TCHAN, 1948. — *Ann. I. P.*, **74** : 182-8.
- POCHON, J. et de BARJAC, H., 1958. — *Traité de Microbiologie des sols*. Dunod Ed., Paris.
- PRATT, D.C. et FRENKEL, A.W., 1959. — *Plant Physiol.*, **34** (3) : 333-7.
- PROCTOR, M.H. et WILSON, P.W., 1958. — *Nature*, **182** (4639) : 891.
- PROCTOR, M.H. et WILSON, P.W., 1959. — *Arch. Mikrobiol.*, **32** (3) : 254-60.
- PSHENIN, L.N., 1959. — *Doklad. Nauk Akad. SSSR.*, **129** (4) : 930-3.
- PSHENIN, L.N., 1959. — *Mikrobiologiya*, **28** : 927-32.
- RAKESTRAW, N.W., 1936. — *Biol. Bull.*, **71** : 133-67.
- RAKESTRAW, N.W. et HOLLAENDER, A., 1936. — *Science*, **84** : 442.
- REINKE, J., 1903. — *Ber. deutsch. Bot. Ges.*, **21** : 481.

- RODINA, A.G., 1956. — *Mikrobiologiya*, 25 : 145-9.
ROSENBLUM, E.D. et WILSON, P.W., 1949. — *J. Bact.*, 57 : 413.
RUBAN, E.L., 1960. — *Mikrobiologiya*, 29 (1) : 34-7.
RUSSEL, H.L., 1892. — *Bot. Gaz.*, 17 : 312.
SCHLOSSING, J.H. et MUNTZ, C.A., 1877-79. — *C.R. Acad. Sci.*, 84 : 301;
C.R. Acad. Sci., 85, 1018; *C.R. Acad. Sci.*, 86 : 891; *C.R. Acad. Sc.*,
89 : 1074.
SCHREIBER, E., 1927. — *Wiss. Meeresunters.*, 16 : 1-35.
SISLER, F.D. et ZOBELL, C.E., 1951. — *Science*, 113 : 511.
SOUSCHKINA, N.M., 1949. — Distribution écologico-géographique d'Azoto-
bacter dans la Mer Noire. Edit. Ac. Sci. U.R.S.S.
SPENCER, D., TAKAHASHI, H. et NASON, A., 1957. — *J. Bact.*, 73 : 553.
SREENIVASAN, A. et VENKATAMARAN, R., 1956. — *J. Gen. Microbiol.*, 15 :
241-7.
TSCHAPEK, M. et GIAMBAGI, M., 1955. — *Arch. Mikrob.*, 21 : 376-90.
VERNON, H.M., 1898. — *Mitt. Zool. Stat. Nâpel*, 13 : 341-425.
VOETS, 1955. — *Naturwissensch.*, 43.
BRAND, T. VON, RAKESTRAW, N.W. et RENN, C.E., 1937. — *Biol. Bull.*,
72 : 165-75.
BRAND, T. VON, RAKESTRAW, N.W. et ZABOR, J.W., 1942. — *Biol. Bull.*,
83 : 273-82.
WAKSMAN, S.A., et STARKEY, R., 1931. — *Soil and the Microbe*, p. 131.
WAKSMAN, S.A., CAREY, C.L. et REUSZER, H.W., 1933. — *Biol. Bull.*, 63 :
57-79.
WAKSMAN, S.A., HOTCHKISS, M. et CAREY, C.L., 1933. — *Biol. Bull.*, 65 :
137-67.
WAKSMAN, S.A. et CAREY, C.L., 1935. — *J. Bact.*, 29 : 531-45.
WAKSMAN, S.A. et RENN, C.E., 1936. — *Biol. Bull.*, 70 : 472-83.
WARINGTON, R., 1891. — *J. Chem. Soc.*, 59 : 484.
WATSON, S.W., 1961. — *Symposium of Marine Microbiology*. Chicago.
WINOGRADSKY, S., 1890-91. — *Ann. I. Past.*, 4 : 213-231, 257-75, 760-71;
Ann. I. Past., 5 : 92-100, 577-616.
WINOGRADSKY, S., 1893. — *C.R. Acad. Sci.*, 116 : 1385.
WINOGRADSKY, S. et OMELIANSKY, W., 1899. — *Cent. Bakt.*, 2 (5) : 329-43,
377-87, 429-40.
WINOGRADSKY, S., 1926. — *Ann. I. Past.*, 40 : 455-520.
WINOGRADSKY, S., 1938. — *Ann. I. Past.*, 60 : 351-400.
WOOD, E.J.F., 1958. — *Bact. Rev.*, 22 (1) : 1-19.
ZARMA, M., 1958. — *C.R. Ass. Plén. Comm. Sci. Int. Explor. Mer Méditer-
ranée*, Monaco.
ZAVARZIN, G. et LEGUNKOVA, R., 1959. — *J. Gen. Microbiol.*, 21 : n° 1,
186-190.
ZELITCH, I., ROSENBLUM, E.D., BURRIS, R.H. et WILSON, P.W., 1951. —
J. Biol. Chem., 191 : 295.
ZO BELL, C.E., 1933. — *Science*, 77 : 27.
ZO BELL, C.E., 1935. — *J. Bact.*, 29 : 78.
ZO BELL, C.E., 1935. — *Proc. Nat. Ac. Sci.*, 21 : n° 9, 517-22.
ZO BELL, C.E. et FELTHAM, C.B., 1935. — *Science*, 81 : 234-6.
ZO BELL, C.E. et ANDERSON, D.Q., 1936. — *Biol. Bull.*, 71 : 324-42.
ZO BELL, C.E. et UPHAM, H.C., 1944. — *Bull. Scripps Inst. Océanog.*, 5 :
239-92.

ÉTUDES PHYSIOLOGIQUES ET HISTOLOGIQUES
SUR LE TÉGUMENT DES HOLOTHURIES
(*HOLOTHURIA TUBULOSA*) ⁽¹⁾

par Elisabeth SERRA - VON BUDDENBROCK

En général, tous les animaux ont des moyens de défense plus ou moins adaptés à la diversité de leurs ennemis. Or, certaines Holothuries sont pourvues d'une toxicité marquée alors qu'elles ne semblent pas avoir d'ennemis. LUDWIG (1889-1892) cite quelques grands Prosobranches, des Astéries, des Crustacés et quelques Poissons, mais dans l'ensemble, les Holothuries ne semblent pas être comestibles pour la plupart des animaux. La substance toxique, l'holothurine, se trouve surtout dans les tubes de Cuvier, mais aussi dans la peau (ATZ, 1952; NIGRELLI, 1952; ARVY, 1954). En outre, toutes les Holothuries ont la possibilité de se durcir instantanément, ce qui les rend complètement invulnérables contre une attaque quelconque.

C'est sur ce dernier fait que nous avons porté notre attention. Si l'on saisit une Holothurie, à n'importe quel endroit du corps, celle-ci se durcit immédiatement sur la totalité du corps, en se contractant en même temps. Elle prend ainsi une forme très régulière et ressemble à un concombre, comme l'indique son

(1) Je tiens à remercier M. le Professeur PETIT, qui a bien voulu m'accueillir au Laboratoire Arago de Banyuls, et s'intéresser à mon travail. J'exprime ma profonde gratitude à M. le Professeur GRASSÉ, mon parrain au C.N.R.S. Je remercie très vivement M. DANOY, Dessinateur au C.N.R.S. ainsi que tout le personnel du Laboratoire.

nom vulgaire. Mais, très peu de temps après, l'Holothurie reprend sa forme normale (fig. 1). On peut obtenir le même résultat en touchant ou pinçant un morceau isolé de la paroi, qui se

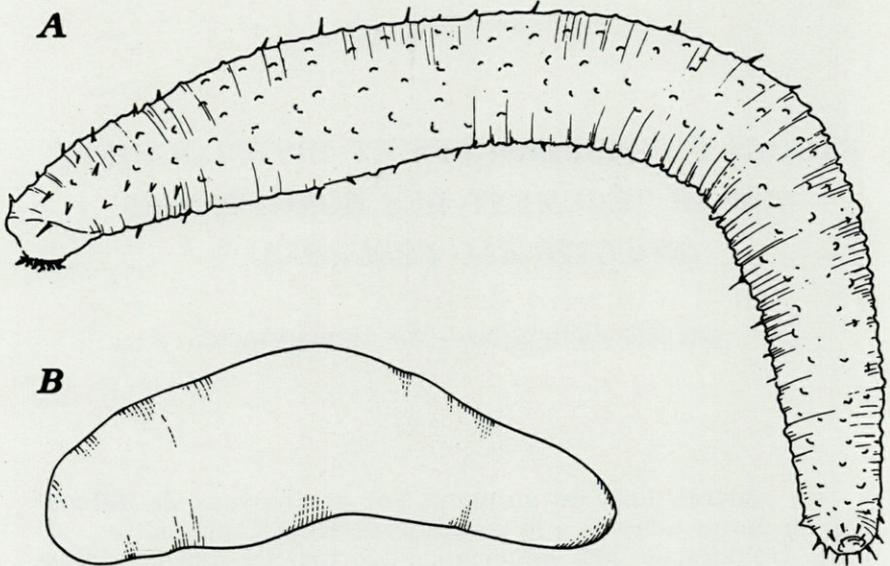


Fig. 1. — Tailles respectives d'une Holothurie normale (A) et d'une Holothurie contractée et durcie (B) (*Holothuria tubulosa*).

durcit instantanément et, selon l'intensité de l'excitation, diminue de volume. Par contre, le ramollissement ne se produit qu'après plusieurs heures, selon la température de l'eau de mer où la portion de tégument séjourne.

La paroi du corps des Holothuries comprend une cuticule, l'épiderme et une large couche de tissu conjonctif, puis des muscles transversaux et longitudinaux. L'épaisseur de la couche de tissu conjonctif varie chez les espèces, mais elle est toujours énorme par rapport à la mince couche musculaire (fig. 2).

On pourrait croire que ce sont les muscles qui provoquent le durcissement de l'animal. Il est pourtant facile de démontrer que ce n'est que le tégument qui en est responsable. D'après un procédé que décrit UEXKÜLL (1926), il est possible d'enlever complètement tous les muscles d'une Holothurie. L'animal est gardé dans l'eau de mer à la température d'environ 30° C, afin de faire ramollir le tégument. On pose ensuite l'anneau calcaire sur un

baton de verre, en poussant la tête vers l'anus. En arrosant doucement avec de l'eau de mer à la même température, on peut ainsi retourner sans trop de difficulté l'Holothurie, ce qui permet d'isoler toute la musculature. Un tel animal montre tout à fait les mêmes réactions que les morceaux de tégument isolé, c'est-à-dire qu'il durcit immédiatement après une excitation

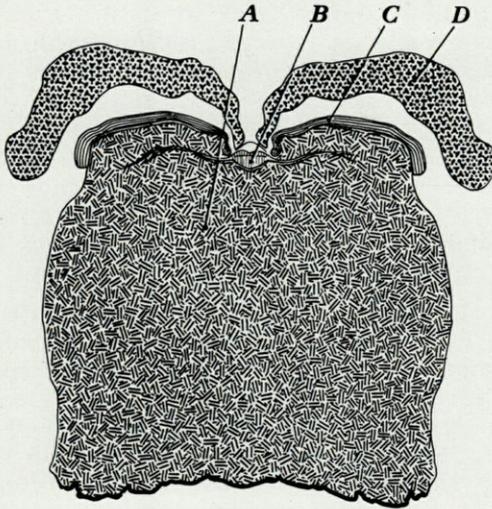


Fig. 2. — Coupe transversale de la paroi du corps d'une Holothurie (schématisée). A = tissu conjonctif; B = nerf radial; C = muscle transversal; D = muscle longitudinal.

mécanique; mais le ramollissement ne se produit qu'assez lentement.

Au premier abord, il est étonnant de constater que l'animal entier est capable de redevenir mou dans un délai de quelques minutes, tandis que les morceaux de tégument isolé ne se ramollissent qu'après des heures, alors qu'ils durcissent pourtant aussi spontanément que l'Holothurie intacte. L'explication est assez facile à trouver. Les Holothuries, qui sont des animaux à organes cavitaires, ne peuvent garder leur forme que par turgescence. Il est évident qu'une excitation qui provoque le durcissement du tégument et en même temps une contraction, a comme conséquence l'augmentation de pression du liquide corporel. Il arrive que la pression intérieure, causée par la contraction du tégument, devienne si forte, que l'Holothurie rejette, avec l'eau, tous ses intestins par l'anus. Normalement, l'animal ne maintient cet état de surpression que très peu de temps; il s'étire de nouveau et se ramollit en même temps. Ici intervient donc le

système musculaire. Il est ainsi facile de comprendre pourquoi l'Holothurie opérée, démunie de muscles, ne peut se ramollir aussi rapidement qu'un animal normal.

Pour démontrer plus nettement les différentes réactions du tégument d'une part et des muscles d'autre part, nous avons provoqué une contraction musculaire à l'aide de l'acétylcholine. Nous avons introduit dans l'anüs une canule et attendu que l'animal se décontracte de nouveau entièrement. A ce moment, la seringue placée avec beaucoup de précaution sur la canule, nous avons injecté dans le corps de l'Holothurie une dose assez forte d'acétylcholine. Le résultat fut spectaculaire. Les muscles se contractèrent instantanément, tandis que le tégument suivait la contraction musculaire en se pliant plus ou moins, et cela sans se durcir. Il paraît être démontré ainsi que le durcissement est tout à fait indépendant de l'action des muscles et qu'il faut séparer cette action du durcissement du tégument.

Le tégument lui-même est capable de répondre à une excitation par une modification de consistance et peut, pour ainsi dire, se contracter et ce fait extraordinaire réclamait une étude histologique approfondie, car il est tentant de supposer qu'il existe au moins quelques éléments musculaires dans le tégument. JORDAN (1914 et 1919) et UEXKÜLL (1926) sont les seuls qui, du point de vue physiologique, ont porté leur attention sur les propriétés du tégument des Holothuries; UEXKÜLL considère ce dernier comme une sorte de musculature (*Sperrmuskulatur*), tandis que JORDAN parle d'un état intermédiaire entre tissu conjonctif et tissu musculaire. D'autre part, de nombreux travaux ont été faits sur l'histologie de ce tégument (JOURDAN, 1883; HAMANN, 1884; HÉROUARD, 1889; CUÉNOT, 1891) sans jamais tenir compte de ses propriétés physiologiques. Cela explique que l'on ne trouve même pas mention de ce problème dans la littérature récente.

S'il est bien reconnu que le tégument des Holothuries est constitué par du tissu conjonctif, rien ne semble avoir été fait pour caractériser ce dernier. Chez les Vertébrés, on distingue trois sortes de fibres conjonctives : les fibres collagènes, réticulines et élastiques. Malheureusement, la plupart des colorations connues sont spécifiques des Vertébrés et on est cependant forcé de se baser sur ces connaissances. Nous avons obtenu de très bons résultats avec les colorations suivantes : Azan, van Gieson, Masson-Goldener et bleu de toluidine. Toutes ces colorations sont caractéristiques pour les fibres collagènes des Vertébrés. D'autre part, nous n'avons pas trouvé la moindre trace de fibres réticulines (colorations de Gomori et de Foot), ou de fibres élas-

tiques (colorations à la Fuchsine-Paraldéhyde et Unna). Il faut en conclure que le tégument des Holothuries est formé uniquement de fibres collagènes qui diffèrent pourtant de celles des Vertébrés et qu'il n'y a dans ce tégument aucun élément musculaire.

Comme nous l'avons déjà mentionné, le tégument se contracte visiblement en durcissant. Certes, il ne s'agit pas d'une contraction au sens propre, car une telle contraction n'est due qu'à un muscle. Cette « contraction » est d'autant plus extraordinaire que l'on ne connaît rien de semblable chez d'autres animaux. Son mécanisme est donc le problème principal à résoudre pour pouvoir comprendre le durcissement du tégument. Ce problème est assez compliqué du fait qu'il n'existe pas de contraction de fibres collagènes et qu'il est impossible de trouver une explication physiologique. La dernière ressource est donc de trouver une explication d'ordre histologique.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, des morceaux de tégument isolé ramollissent après un séjour de plusieurs heures dans l'eau de mer. L'essentiel était donc d'arriver à fixer les pièces dans cet état sans provoquer la contraction.

Il est connu que le fixateur provoque une certaine contraction sur du tissu vivant. Il est pourtant possible d'éviter cette contraction en narcotisant préliminairement les pièces à fixer. Nous avons procédé de la manière suivante : les morceaux de tégument, coupés selon la dimension choisie pour l'inclusion, sont conservés séparément dans de petits cristallisoirs avec de l'eau de mer à la température du laboratoire. Dès que les pièces sont complètement ramollies (au maximum après 24 heures), nous ajoutons petit à petit pendant quelques heures, à l'eau de mer, de petites doses de chloréthane, afin de narcotiser et de fixer préliminairement les pièces. Suit la fixation par le fixateur choisi (en général Bouin ou formol), ce qui n'a plus aucun effet rétrécissant.

La fixation des pièces dures se fait facilement sans préparation préliminaire. Comme coloration, nous avons choisi la méthode de Masson-Goldener qui nous a donné toujours les meilleurs résultats.

Une première série de coupes comparatives nous a donné de très bons résultats et une nouvelle explication du phénomène. Sur les coupes du tégument durci, on remarque partout des faisceaux de fibres assez importantes, les faisceaux étant plus ou moins serrés dans une masse finement fibrillaire. Les grandes fibres semblent suivre une certaine orientation.

Les coupes du tégument ramolli ont un aspect tout à fait différent. On y trouve toujours les grandes fibres, mais les faisceaux sont beaucoup moins serrés entre eux et les fibres fines forment un réseau assez poreux. Toutes les fibres semblent sans orientation, comme étirées dans tous les sens.

Ce premier résultat fort intéressant nous a amenée à continuer cette étude comparative et à tenter de trouver s'il existe une orientation générale des fibres. En orientant les inclusions différemment, il était facile d'obtenir, soit des coupes transversales, soit des coupes longitudinales ou des coupes tangentielles. Le résultat de cette série nous montre qu'en effet, chacune des trois faces présente un aspect tout à fait différent (figs. 3 à 5). Comme l'indique déjà HAMANN, à l'extérieur du tégument, c'est-à-dire à l'endroit le plus riche en spicules, les fibres collagènes s'entrecroisent en formant un réseau, tandis qu'à l'intérieur, elles s'alignent plus ou moins parallèlement. La figure 9 montre la structure du tégument.

Ces coupes nous donnent une partie de l'explication de la soi-disante contraction du tégument. Il s'agit plutôt, en effet, d'un rétrécissement du réseau de fibres qui glissent les unes entre les autres ou s'étirent de nouveau. Ce qui nous explique aussi comment il est possible de comprimer un morceau de tégument en le pressant dans tous les sens, procédé qui semble purement mécanique. On y voit le manque total d'élasticité et en même temps la différence fondamentale entre le rétrécissement du tégument et la contraction musculaire. Même si on était tenté de les comparer en apparence, il faut se rendre compte que ces deux phénomènes n'ont absolument rien de commun.

Ces réactions extraordinaires du tégument des Holothuries n'admettent aucune comparaison avec d'autres réactions physiologiques. On est même tenté de chercher quelque chose de semblable dans des systèmes non biologiques et KUHN (d'après HEIDERMANNS, 1957) fait une comparaison avec le caoutchouc.

Il faut ajouter une autre particularité du tégument des Holothuries. Une fois mort, le tissu se dissout littéralement, en formant une masse muqueuse blanchâtre. LINDEMANN (1900) a essayé d'expliquer ce phénomène par un échange d'eau entre les cellules et la substance fondamentale. C'est ainsi qu'il explique la modification de consistance du tégument, c'est-à-dire la faculté de ramollir, qu'il regarde comme analogue au cas anormal du tégument se transformant en mucus. LINDEMANN indique en outre, comme preuve de sa théorie, qu'en pressant un fragment de tégument ramolli et un fragment de tégument durci, il a pu constater que le dernier seulement rend un liquide jau-

nâtre, tandis qu'il n'est pas possible d'exprimer une seule goutte du tégument ramolli. Il en conclut que, au cours du ramollissement, les cellules donnent de l'eau à la substance interstitielle et inversement, en durcissant les cellules se gonflent d'eau provenant de cette dernière.

Cette explication est très séduisante, mais il est difficile, de la mettre en accord avec nos résultats histologiques. Premièrement, LINDEMANN (ainsi que HAMANN), regarde les fibres collagènes comme prolongements des cellules conjonctives. Nous-même n'avons pu trouver la moindre trace de cellules conjonctives, ou d'autres éléments cellulaires en dehors des cellules migrantes, qui pourtant, par rapport à l'épaisseur du tégument, sont en nombre minime. Il faut donc interpréter les cellules de LINDEMANN comme des fibres collagènes. Ensuite, la substance fondamentale ne prend qu'une place négligeable par rapport à la masse des fibres. Elle est située tout à fait à l'intérieur du tégument, revêtant ainsi la couche musculaire et les nerfs radiaux. C'est à cet endroit, d'ailleurs, que se trouvent la plupart des cellules migrantes qui sont chargées de l'excrétion et de la pigmentogenèse (CORNIL, MOSINGER, CALEN, 1935), ce qui explique aussi la présence, dans cette zone, d'amas plus ou moins volumineux de granulations pigmentaires. Il ne peut donc pas s'agir de telles cellules.

Aussi remarquables que soient les expériences et les explications de LINDEMANN, qui d'ailleurs ne s'occupe que secondairement de la question du changement de consistance du tégument, nos coupes s'opposent à une telle interprétation dans le cas que nous considérons. Pour comprendre cette divergence, il faut ajouter que LINDEMANN a surtout travaillé avec des espèces qui se « dissolvent » facilement et que ces espèces sont toujours beaucoup plus riches en substance fondamentale. *Holothuria tubulosa*, par contre, est citée comme espèce beaucoup plus résistante et n'ayant que très peu de substance fondamentale. Ceci nous fournit la preuve contraire, car, malgré la faible abondance de la substance fondamentale chez cette espèce, les changements de consistance ont lieu avec la même rapidité et la même facilité.

Pour observer des morceaux isolés de tégument sans muscles, on obtient le meilleur résultat en coupant des anneaux d'environ un centimètre d'épaisseur, dans le sens transversal; ces anneaux peuvent facilement être isolés de la couche musculaire qui se trouve à l'intérieur. Ils sont d'une consistance extrêmement dure, provoquée par la coupure. Comme nous l'avons déjà indiqué plus haut, ils ramollissent après un séjour de plusieurs heures dans l'eau de mer. Une fois ramolli, le résultat

inverse est facilement provoqué, en touchant à nouveau ces anneaux. On peut répéter ces changements plusieurs fois, jusqu'à ce que le tissu commence à se dissoudre.

Quoique nous ne puissions pas dire par quelle force ces changements se produisent, il est certain que le durcissement d'une part et le ramollissement d'autre part, sont deux phénomènes différents.

Normalement, le tégument des Holothuries n'est pas dur et il ne durcit qu'après une excitation. Sans excitation ultérieure, pourtant, le tégument n'est pas capable de maintenir cet état dur, et il se ramollit forcément à nouveau, et cela pendant 12 à 24 heures. D'autre part le tégument d'une Holothurie morte est toujours ramolli. Ces faits, outre la spontanéité du durcissement, nous prouvent que ce dernier est une réaction active. Le ramollissement, par contre, une réaction passive, qui, pourtant, chez l'animal entier, est influencée par un autre système. Nous avons déjà mentionné l'influence des muscles au début, mais cela n'exclut pas une influence possible du système nerveux.

Le système nerveux des Holothuries est formé d'un anneau nerveux duquel partent les cinq nerfs radiaux. Ces nerfs radiaux sont constitués de deux rubans superposés, séparés par une mince couche de tissu conjonctif. La partie extérieure (ectoneurale) envoie des nerfs dans les podia et se ramifie dans le tégument en un plexus général. La partie intérieure (hyponeurale) pourvoit les muscles, mais aussi le tégument. Ce sont les fibres de la partie ectoneurale qui sont considérées comme étant en relation avec les cellules sensibles, surtout les chimiorécepteurs et les thigmorécepteurs (HYMAN, 1955).

Le plexus général du tégument mérite une attention spéciale. Il est mentionné par divers auteurs, mais les données les plus précises se trouvent chez JOURDAN. Et depuis, les méthodes en histologie ont évolué. Pour cette raison, nous avons repris cette question et essayé de trouver ce plexus général. Malheureusement, nous nous sommes heurtée aux difficultés déjà rencontrées par JOURDAN, qui n'obtenait aucun résultat par les méthodes au chlorure d'or, spécifiques du système nerveux. Nous avons essayé plusieurs techniques comme celles de Landau, Gros-Schultze et Holmes avec ses variations, mais aucune ne nous a donné les résultats recherchés.

C'est presque par hasard que nous avons trouvé plus tard, sur une coupe colorée d'après Masson-Goldener, des éléments nerveux et des ramifications, émanant de nerfs plus importants. Tous ces éléments nerveux se colorent très bien en rouge assez vif par la fuchsine acide Ponceau. Dans la plupart des cas, on



Fig. 3. — Coupe tangentielle du tégument durci (en haut); coupe tangentielle du tégument ramolli (en bas).

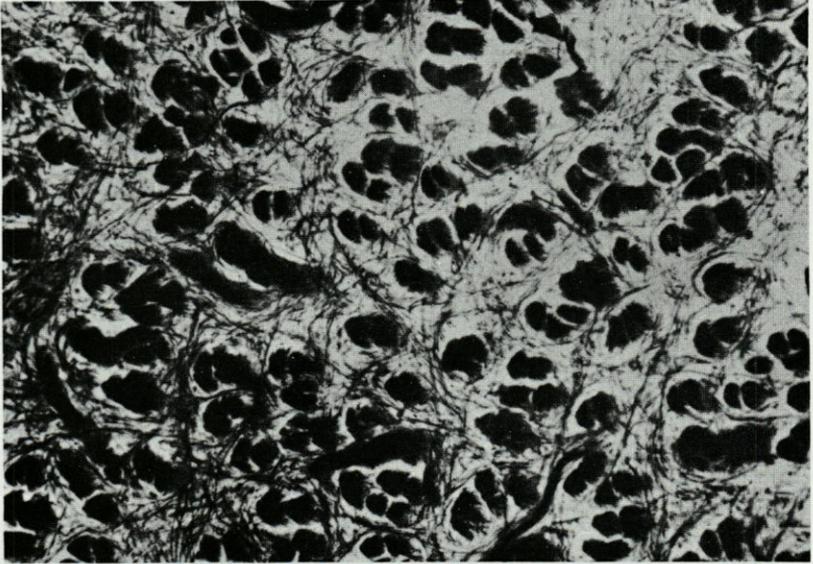


Fig. 4. — Coupe transversale du tégument durci (en haut); coupe transversale du tégument ramolli (en bas).

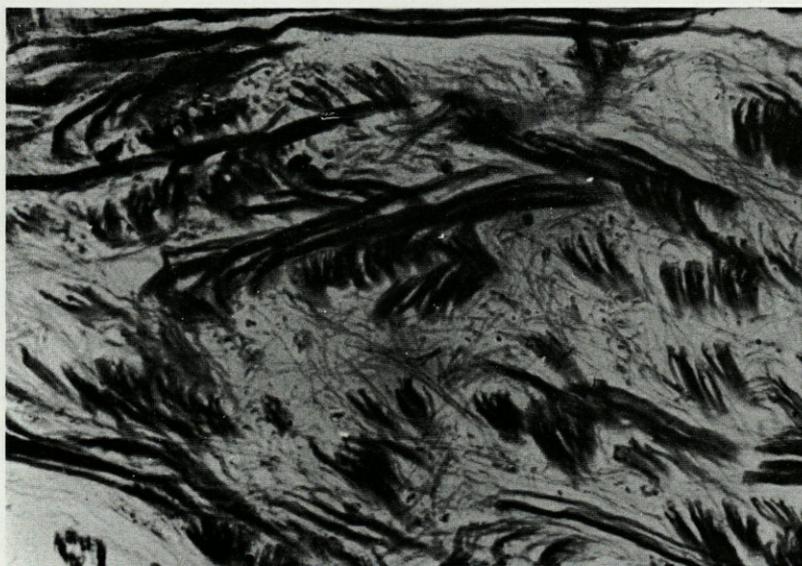
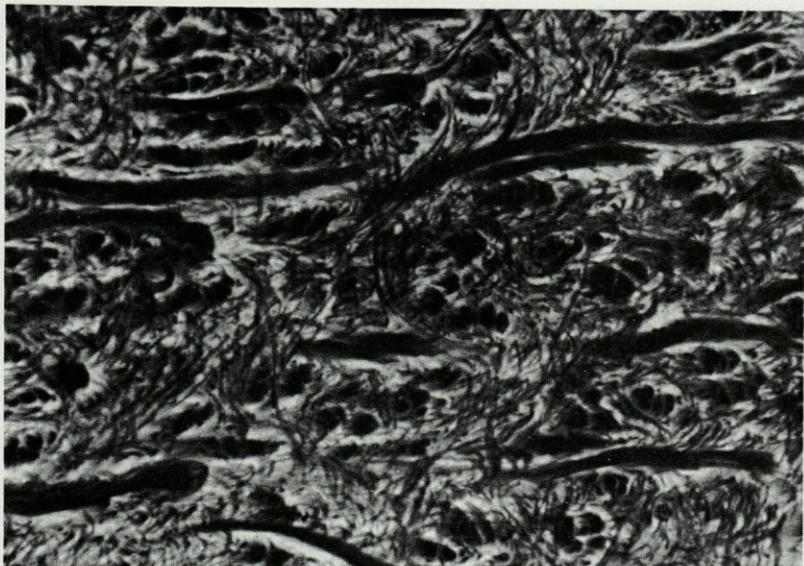


Fig. 5. — Coupe longitudinale du tégument durci (en haut); coupe longitudinale du tégument ramolli (en bas).

ne voit que des fragments de ce plexus, des fibres excessivement minces et hyalines, se ramifiant dans tous les sens. La quantité de noyaux empêche souvent de distinguer clairement ces ramifications. Parmi nos coupes, nous en avons trouvé qui étaient extrêmement riches en éléments nerveux, tandis que d'autres n'en montraient pas la moindre trace. Nous l'expliquons par le fait déjà indiqué par JOURDAN, à savoir qu'il existe deux réseaux nerveux, l'un profond, l'autre sous-épithélial.

Nous pouvons considérer la réaction d'une Holothurie qui se durcit après une excitation mécanique, comme un réflexe. Dans ce cas, il est indispensable d'étudier l'influence de toutes les parties du système nerveux, c'est-à-dire de l'anneau nerveux, des nerfs radiaux et du plexus général.

Dans l'ensemble, l'influence du système nerveux est facile à démontrer. Avec beaucoup de précaution, il est possible de narcotiser une Holothurie avec ses tentacules sortis. Ceci est important, car il est difficile chez un animal aussi immobile d'enregistrer le point final de la narcose. Les tentacules, considérés comme les organes les plus sensibles à un contact quelconque, permettent de constater avec certitude que l'anesthésie est complète. Tandis que les Holothuries ne se montrent pas très sensibles à l'uréthane, le chloréthone donne de très bons résultats (RANDOLPH, 1900). Une fois narcotisée, l'Holothurie reste absolument insensible à toute excitation et il est impossible de provoquer le durcissement. Placé dans l'eau de mer pure, l'animal reprend très vite ses réactions normales. L'influence du système nerveux en général est donc évidente, car l'effet de l'anesthésie se produit en premier lieu sur le système nerveux.

Par contre, nous n'avons pas pu trouver la moindre influence de l'anneau nerveux. Nous avons coupé la « tête » de l'animal, c'est-à-dire la partie contenant l'anneau nerveux. Un tel animal amputé répond de la même manière qu'une Holothurie intacte à une excitation, durcissement et ramollissement peu de temps après. Il est évident que l'anneau nerveux ne pouvait être le seul responsable de ces changements, qui se font aussi bien sur des morceaux de tégument isolé, mais il aurait été possible de lui attribuer un rôle dominant. Deux Holothuries, l'une pourvue de la partie antérieure, l'autre de la partie postérieure, offrent les mêmes réactions. Il n'existe donc pas d'influence de l'anneau nerveux sur les changements de consistance du tégument.

Une autre expérience nous en donne aussi la preuve. Nous avons coupé les cinq nerfs radiaux, de deux Holothuries retournées : chez un exemplaire, directement derrière l'anneau ner-

veux, chez un autre au milieu de l'animal. Retournées, à nouveau, les deux Holothuries présentent les réactions normales: elles durcissent et se ramollissent comme avant l'expérience. La question de l'influence des nerfs radiaux seuls est plus délicate. Ces derniers sont liés étroitement aux muscles longitudinaux et il est impossible de les isoler sans les abimer. D'autre part, la présence de ces muscles chez l'Holothurie qui a gardé ces cinq nerfs radiaux, en comparaison avec un animal dépourvu de ces éléments nerveux, et par conséquent des muscles, falsifie la réaction. Pourtant, JORDAN indique avoir travaillé avec des bandes de tégument pourvues ou non de nerfs radiaux. Malheureusement, il ne donne aucune explication sur ce fait et nous ignorons, s'il a isolé les muscles. Cet auteur a étudié la résistance du tégument à une dilatation, en suspendant des bandes, auxquelles il avait accroché un poids. On pourrait interpréter cela comme une excitation permanente qui a comme conséquence une résistance maximale à la dilatation. JORDAN constate qu'une bande possédant le nerf radial a beaucoup moins de résistance qu'une bande qui en est dépourvue. Autrement dit, la bande munie du nerf est capable de se ramollir plus rapidement. Il

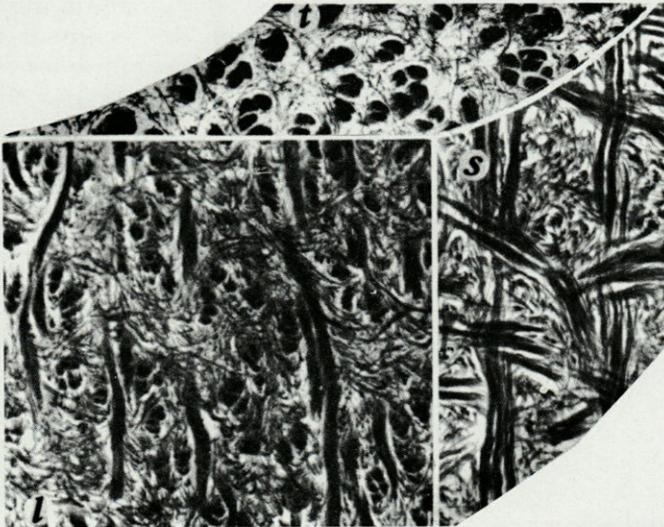


Fig. 6. — Représentation schématique de l'orientation des fibres collagènes du tégument des Holothuries. *t* = coupe transversale, *l* = bande longitudinale, *s* = surface.

en conclut que les nerfs radiaux jouent le rôle d'un système dominant qui commande le ramollissement, sans pourtant l'effectuer lui-même.

Même si une telle influence est possible, nous nous abstenons de la discuter, parce que les indications ne sont pas complètes et nous ne voyons pas le moyen d'isoler le nerf de la musculature.

Il faut donc supposer que c'est le plexus nerveux qui est responsable du durcissement du tégument. JORDAN nous en donne encore une autre preuve. Il compare à nouveau deux bandes de tégument isolées, dont une dans une solution de 2 % de cocaïne dans l'eau de mer, l'autre dans l'eau de mer pure. La première est complètement molle et sans résistance. Nous y voyons une preuve de ce que nous avons dit plus haut : le durcissement étant une réaction active, dans laquelle le plexus nerveux joue un rôle direct, ne peut se produire sous l'influence de la cocaïne, connue comme narcotique du système nerveux périphérique. Le tégument est donc sans résistance et se dilate sous l'influence d'un poids.

Le fait que le plexus nerveux seulement soit responsable du durcissement est assez important. Malheureusement, il est très difficile d'imaginer de quelle façon ce plexus agit sur le tégument. On peut supposer des médiateurs chimiques et dans ce but, nous avons soumis des portions de tégument isolé et ramolli à l'action de différents produits biochimiques : adénosinetriphosphate, adrénaline, acétylcholine, histamine et même extrait de tégument durci.

Il faut mentionner les difficultés que ces expériences représentent. La « contraction » du tégument, aussi forte qu'elle soit après une excitation continue, ne se manifeste que d'une façon minime sur de petites portions, surtout si l'excitation n'est pas très forte. Il est donc difficile de constater une réaction seulement à l'œil nu.

Nous avons essayé d'enregistrer les modifications de consistance du tégument par un système à levier, pour faire des mesures exactes; mais la petitesse de l'objet et la lenteur des réactions, s'opposent à l'enregistrement. L'impossibilité de mesurer les variations de consistance du tégument nous a empêchée, malheureusement, d'approfondir la question des produits biochimiques.

Il est plus difficile encore d'apprécier la consistance du tégument par contact, car la preuve elle-même devient facilement une excitation mécanique. Il était donc nécessaire de répéter ces expériences très souvent pour que les résultats deviennent sûrs. Aucun des produits mentionnés n'avait le moindre effet sur le tégument, même dans le cas de concentrations très fortes.

Cela n'exclut pas du tout la possibilité des médiateurs chimiques; mais nous abordons ici la partie purement biochimique de nos recherches, ce qui dépasserait le cadre de ce travail. Quant aux nerfs radiaux, BACQ (1939) a démontré chez eux la présence d'acétylcholine.

Nous avons essayé également la stimulation électrique, mais les résultats sont aussi négatifs.

RÉSUMÉ

Les Holothuries répondent à chaque excitation mécanique par un durcissement spontané de toute la paroi du corps. Celle-ci se rétrécit en même temps nettement, mais reprend sa forme normale quelques minutes plus tard, en se ramollissant à nouveau. Il s'agit d'un réflexe dû au plexus nerveux général qui, pourtant, ne répond ni à la stimulation électrique, ni à certains produits biochimiques, comme l'adénosinetriphosphate, l'adrénaline, l'histamine et l'acétylcholine.

Le tégument des Holothuries est dépourvu d'éléments musculaires et se compose uniquement de fibres collagènes, ne laissant qu'une place minime à la substance fondamentale. En se rétrécissant, les fibres glissent les unes sur les autres, en donnant ainsi une consistance ferme au tégument, mais elles ne se contractent pas elles-mêmes.

BIBLIOGRAPHIE

- ARVY, L., 1954. — Toxicité des tissus de *Holothuria tubulosa*, de *H. poli* et de *H. impatiens* pour quelques vertébrés. *C.R. Acad. Sci.*, **239** : 1432-1434.
- ATZ, W., 1952. — Beneficent poison from sea. *Animal Kingdom*, **55** : 175-177.
- BACQ, Z.M., 1939. — Action de l'ésérine chez les Holothuries et chez les Ascidies. Présence des nerfs cholinergiques chez les Holothuries. *Arch. intern. Physiol.*, **49** : 25-32.
- CORNIL, L., MOSINGER M. et CALEN M., 1935. — La désintégration physiologique de l'appareil pigmentaire chez les Holothuries. *C.R. Soc. Biol. Paris*, **119** : 106-107.
- CUÉNOT, L., 1891. — Etudes morphologiques sur les Echinodermes. *Arch. Biol.*, **11** : 313-680.
- HAMANN, O., 1883. — Beiträge zur Histologie der Echinodermen. I. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, **39** : 145-190.

- HAMANN, O., 1883. — Beiträge zur Histologie der Echinodermen. II. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, 39 : 309-333.
- HEIDERMANNS, C., 1957. — Grundzüge der Tierphysiologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- HÉROUARD, E., 1889. — Recherches sur les Holothuries des côtes de France. *Arch. Zool. exp. gén.*, Sér. 2, 7 : 535-704.
- HYMAN, L.H., 1955. — The Invertebrates, Echinodermata, Vol. IV. McGraw-Hill Book Company INC. New York, Toronto, London.
- JORDAN, H., 1914. — Über « reflexarme » Tiere. IV. Die Holothurien. Erste Mitteilung. Die Holothurien als hohlorganige Tiere und die Tonusfunktion ihrer Muskulatur. *Zool. Jahrb., Jena, Abt. f. allg. Zool.*, 34 : 365-436.
- JORDAN, H., 1919. — Ueber « reflexarme » Tiere. IV. Die Holothurien. Zweite Mitteilung. Die Reizbarkeit und der Einfluss des zentralen Nervensystems auf die Muskulatur und die muskelähnlichen Fasern der Haut (auf Erregbarkeit und Tonusfunktion). *Zool. Jahrb., Jena, allg. Zool. u. Physiol.*, 36 : 109-156.
- JOURDAN, M., 1883. — Recherches sur l'histologie des Holothuries. *Ann. Mus. Hist. nat. Marseille, Zool.*, 1 (6) : 5-64.
- LINDEMANN, W., 1900. — Über einige Eigenschaften der Holothurienhaut. *Zeitschr. f. Biol.*, 39 : 19-36.
- LUDWIG, H., 1889-1892. — Die Seewalzen. In H.G. BRONNS, Klassen und Ordnungen des Tierreichs, 2 (3), Buch 1.
- NIGRELLI, R.F., 1952. — The effects of Holothurin on Fish and Mice with Sacroma 180. *Zoologica*, 37 : 89-90.
- RANDOLPH, H., 1900. — Chlorethone (Acetonchloroform) : an Anaesthetic and Macerating Agent for Lower Animals. *Zool. Anzeiger*, 23 : 436-439.
- UEXKÜLL, J. v., 1926. — Die Sperrmuskulatur der Holothurien. *Pflügers Arch. f. ges. Physiol.*, 212 (1) : 1-14.

OCTAVELLA GALANGAUI n. g. n. sp.
DEMOSPONGIAE, OSCARELLIDAE,
DE BANYULS-SUR-MER

par Odette TUZET et Jean PARIS

En 1862, O. SCHMIDT signale pour la première fois, sous le nom d'*Halisarca lobularis*, une Éponge sans squelette qui fut ensuite étudiée par CARTER (1874) et par BARROIS (1876). C'est SCHULZE (1877) qui, dans son mémoire sur le genre *Halisarca* refait longuement l'étude de l'espèce *Halisarca lobularis*, décrit l'histologie et le développement et en donne des figures.

En se basant sur le travail de SCHULZE, VOSMAER (1887) sépare *Halisarca lobularis* des autres *Halisarca* et en fait un genre nouveau, le genre *Oscarella*, qu'il nomme ainsi en souvenir du Spongiologue Oscar SCHMIDT. TOPSENT (1895), dans son étude monographique des Spongiaires de France, décrit à nouveau *Oscarella lobularis*, il l'a observée à Banyuls où elle est de couleurs différentes de celle de Roscoff, passant du jaune-brunâtre au vert et même au violet. Les oscules sont au sommet des lobes les plus hauts. La partie basale de l'Éponge est occupée par une cavité, l'hypophare. Le mésenchyme se compose d'une masse fondamentale anhiste, claire, parsemée de cellules sphéruleuses incolores. Il forme, à lui seul, la charpente de tout le corps; très épais dans l'ectosome, il double toujours la paroi des canaux les plus larges, remplit dans le chaonosome les intervalles entre les corbeilles et constitue, enfin, la lame basilaire et les cloisons de l'hypophare.

Toutes les cavités sont tapissées par des cellules épithéliales

pourvues d'un long flagellum. On peut, sur le vivant, observer ces larges fouets animés de battements énergiques.

Les choanocytes, groupés en corbeilles, se distinguent bien des pinacocytes flagellés, par leurs cils plus grêles et leurs collettes.

Dans son ensemble, *Oscarella lobularis* se montre très lacuneuse. Les pores conduisent dans des canaux afférents qui traversent le choanosome et se déversent dans l'hypophare qui est très important. Dans l'éponge bien développée, ce dernier est représenté par un vaste système de lacunes dans les cloisons duquel murissent les éléments sexuels. Il occupe alors, non seulement la base du corps, mais la portion centrale des lobes. *Oscarella lobularis* aurait les sexes séparés.

En 1938, MEEWIS, étudiant l'embryologie d'*Oscarella lobularis*, met à nouveau cette espèce dans le genre *Halisarca*, trouvant qu'il n'y a pas de différences essentielles entre les deux genres. Elle n'observe pas de pinacocytes externes flagellés, mais les endopinacocytes, de même taille que les choanocytes, sont flagellés comme eux. Les Éponges qu'elle a étudiées seraient hermaphrodites.

TOPSENT (1944) rétablit le genre *Oscarella* pour l'éponge décrite par SCHMIDT, SCHULZE et lui-même en 1895. Tout diffère, dit-il, entre les deux genres *Halisarca* et *Oscarella*, le port, l'ectosome, le mésenchyme dont la substance fondamentale est fibrillaire, les corbeilles vibratiles, le système des canaux et les orifices qui les desservent.

Dans leur travail tout récent sur l'étude au microscope électronique d'*Oscarella lobularis*, LEVI et PORTE (1962) confirment les données de TOPSENT (1895, 1944) sur cette éponge. Ils la définissent ainsi : « sans aucun squelette, à mésoglée réduite sauf dans une zone basale au contact du substrat, cette éponge se compose de deux épithéliums « endodermique choanocytaire » et « ectodermique pinacocytaire », dont les cellules ont un volume et une structure comparables ». Ils étudient ensuite les deux types cellulaires de l'éponge. Les chambres vibratiles comprennent environ 30 à 80 choanocytes dont les surfaces de contact sont réduites, sauf dans le tiers basal, le noyau est proximal, le cytoplasme vasculaire et le flagelle apical médian.

Les exo- et endopinacocytes sont d'une taille analogue à celle des choanocytes et les noyaux sont de même dimension, beaucoup sont flagellés.

La mésoglée réduite, sauf dans la zone basilaire, est inégalement dense et fibrillaire.

En 1953, DOMANTAY décrivait une nouvelle espèce d'*Oscarella*, *O. malabonensis*. Deux ans plus tard (1955), dans une deuxième publication, il rectifiait son précédent travail et montrait qu'*Oscarella malabonensis* était, non pas une Éponge, mais une masse d'aspect spongiforme, faite d'un amalgame de tubes d'Amphipodes, Polychètes et Turbellariés. La majorité des animaux formant l'amas sont des *Corophium shoemakeri* Monod (1955).

Nous avons récolté cet été dans la zone littorale de la baie de Banyuls-sur-Mer (P.-O.) une Éponge qui nous a surpris au premier abord par son port, sa couleur et sa texture. Elle ne correspondait à aucune des Éponges que nous avons récoltées jusque là dans cette région. Son étude histologique nous a montré que nous avions affaire à une *Oscarellidae*, voisine d'*Oscarella lobularis*, mais qui différerait de cette espèce par des caractères importants. On ne peut rapprocher cette Éponge des *Halisarca*, car les différences existant entre les spécimens récoltés à Banyuls et les *Halisarca* sont bien plus importantes que celles qui les séparent d'*Oscarella lobularis*. En effet, les *Halisarca* montrent un mésenchyme bien développé, traversé en tous sens et dans toute son épaisseur par des tractus conjonctifs. Il y a un cortex important, les corbeilles vibratiles sont grandes et irrégulières et il n'y a pas de cavité comparable à l'hypophare de TOPSENT. De plus les larves d'*Halisarca* et d'*Oscarella* sont de deux types différents, parenchymula pour *Halisarca*, amphiblastula pour *Oscarella* (LEVI, 1953-1956) et les larves de l'Éponge que nous décrivons ici, sont nettement du type amphiblastula.

L'*Oscarellidae* que nous avons récoltée est lobée, mais les lobes peuvent être allongés et dressés, en particulier ceux qui portent les oscules, qui sont ainsi à l'extrémité de sortes de cheminées hautes de plusieurs centimètres (Pl. I, a et b et fig. 1).

Les ouvertures osculaires sont grandes; nous en avons mesuré de 4 mm de diamètre.

La couleur de l'Éponge est soit jaune soit bleue, ou jaune et bleue, selon les portions de l'animal. Un exemplaire était vert foncé. Nous ne pensons pas qu'il y ait là une action de la lumière ainsi que le pense TOPSENT, car tous nos spécimens furent récoltés dans une grotte étroite complètement à l'abri de la lumière.

Nous ne pouvons préciser la taille de ces Éponges qui vivent sous des surplombs de roches auxquels elles ne sont d'ailleurs qu'assez faiblement adhérentes, car elles se trouvent dans des petites failles inaccessibles en plongée. On ne peut donc les observer sur place et déterminer la surface occupée par chaque

individu. Nous avons eu des morceaux assez gros mesurant jusqu'à 5 et 6 cm de longueur.

La disposition des canaux rappelle ce que les auteurs ont décrit chez *Oscarella lobularis*. Les pores inhalants sont largement ouverts et conduisent dans d'importants canaux inhalants qui se ramifient pour amener l'eau dans les corbeilles vibratiles (Pl. II, a).

Des corbeilles partent de courts canaux exhalants qui aboutissent à des canaux plus importants se dirigeant vers la cavité atriale.

De celle-ci, partent des diverticules de l'atrium allant aux oscules. Mais, les courts canaux exhalants issus des corbeilles, peuvent aboutir directement dans les canaux osculaires, sortes de ramifications de l'atrium.

Les préparations histologiques nous ont montré que la surface externe de l'Éponge est recouverte de gros pinacocytes ovoïdes, plus ou moins aplatis, qui ne sont jamais flagellés. Les auteurs qui nous ont précédés ayant, pour la plupart, décrit de longs flagelles partant des endopinacocytes, nous avons cherché à voir ces flagelles sur le vivant et sur les préparations fixées et colorées (par des fixateurs et des colorations variés). Nous n'avons jamais vu ces flagelles, pas plus d'ailleurs sur les exopinacocytes que sur les endopinacocytes, de grande taille aussi, qui tapissent les canaux, la surface atriale, la périphérie des cordons mésenchymateux qui, chez certaines Éponges, s'observent (comme chez *Oscarella lobularis*) dans l'atrium. Tous les auteurs qui nous ont précédé ont observé des endopinacocytes flagellés chez *Oscarella lobularis*, les flagelles étant plus gros et plus longs que ceux des choanocytes.

Par contre, sur le vivant, sur les préparations fixées et colorées, on voit parfaitement les flagelles des choanocytes, donnés par tous les auteurs comme plus ténus et courts que ceux des pinacocytes.

Nous sommes donc obligés d'admettre que, dans l'Éponge que nous décrivons ici, exo- et endopinacocytes sont dépourvus de flagelles.

Les exopinacocytes (fig. 2, A) qui peuvent mesurer de 8 à 10 μ et même 12 μ de long sur 4,5 à 5 μ d'épaisseur, montrent une face externe bombée et une face interne aplatie, ils ont un noyau arrondi avec des granules de chromatine; le nucléole, lorsqu'il existe, est petit. Le protoplasme a souvent, sur les préparations fixées et colorées, un aspect alvéolaire; les alvéoles correspondent à de gros granules réfringents que l'on observe

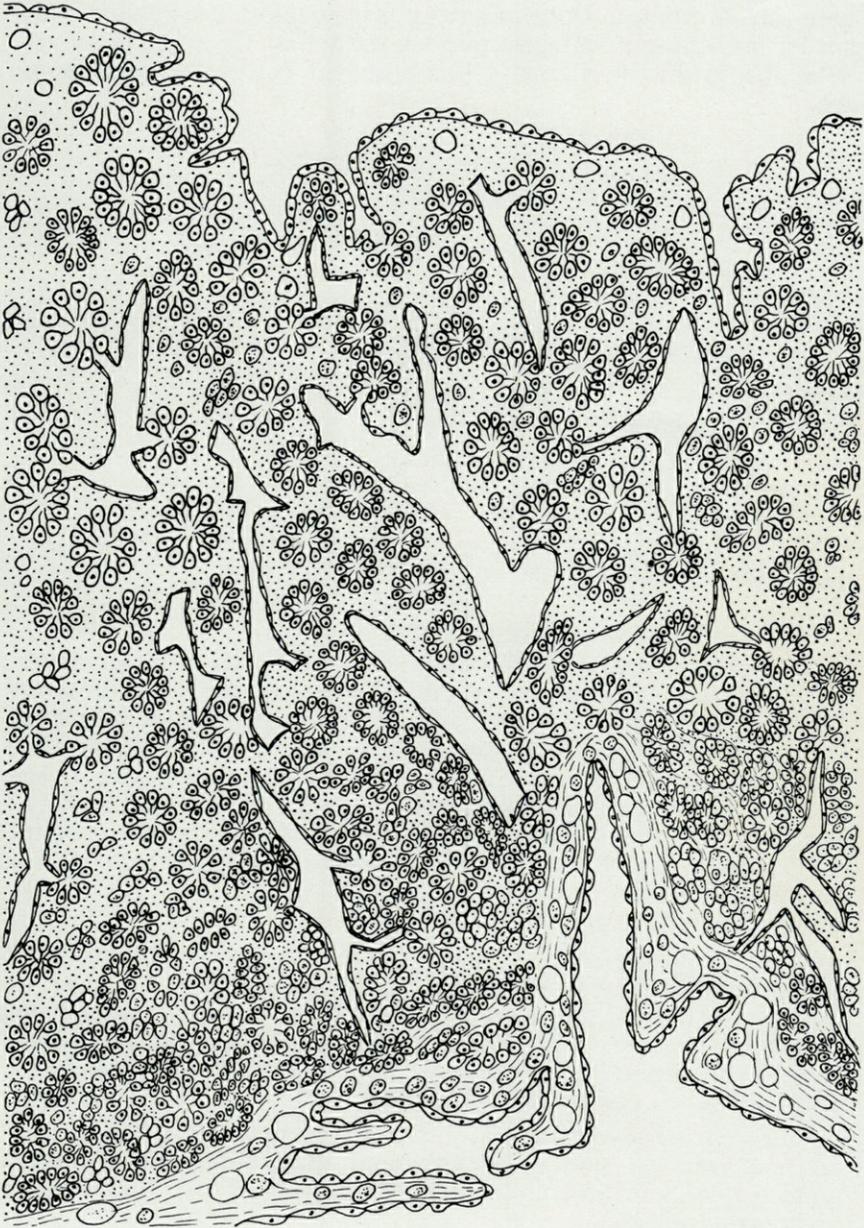


Fig. 1. — Coupe schématique à travers les tissus normaux d'*Octavella galangai* montrant l'aspect des régions superficielle et profonde.

bien sur le vivant. Dans d'autres pinacocytes, les grains, plus petits, ne sont pas détruits par les fixateurs. Ce sont, pensons-nous, des grains de pigment, donnant leur coloration aux éponges.

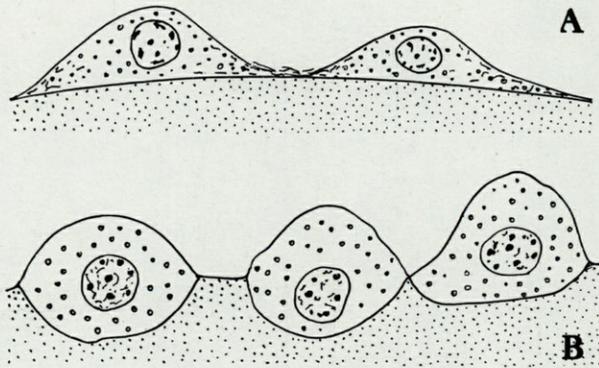


Fig. 2. — A, exopinacocytes; B, endopinacocytes, hématoxyline ferrique de Heidenhain ($\times 2\ 000$).

Les endopinacocytes (fig. 2, B; Pl. II, b) ont un aspect différent selon les points de l'Éponge considérés. Ils ne sont guère différents des exopinacocytes dans certains canaux inhalants périphériques, mais, dans les parties plus profondes de l'Éponge et surtout au voisinage de la cavité atriale, ils deviennent plus gros, plus arrondis et se chargent en granules. Les pinacocytes bordant l'atrium et les diverticules du mésenchyme qui, se détachant des parois de l'atrium, deviennent libres dans la cavité, sont de grande taille et souvent presque sphériques de 10 à 12 μ de diamètre (Pl. I, 3) avec des noyaux de 4 à 5 μ et un protoplasme bourré de granules.

Les choanocytes sont aussi de grande taille comme ceux d'*Oscarella lobularis*. Ils mesurent 7 à 8 μ de hauteur (fig. 3), le noyau est basal. La collerette et le flagelle sont le plus souvent bien visibles. A la base du flagelle est un blépharoplaste auquel est appendu un parabasal en croissant ou sphérique, avec substance chromophile externe et chromophile interne.

Les corbeilles vibratiles, proches les unes des autres, car le mésenchyme est peu abondant, sont généralement arrondies, mais il peut y en avoir d'ovales et certaines même sont légèrement irrégulières.

Elles sont en communication avec les canaux inhalants et exhalants par deux canalicules, souvent opposés, tapissés de

pinacocytes aplatis et de petite taille (fig. 4), les canalicules ont au maximum $30\ \mu$ de long.

Les plus petites corbeilles montrent, en coupe, au moins 25 choanocytes, ce qui représente bien plus que les 30 à 80 choa-

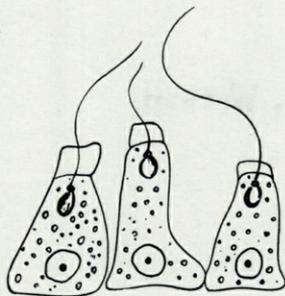


Fig. 3. — Choanocytes. Trichromique de P. Masson ($\times 2\ 000$).

nocytes par corbeille d'*Oscarella* (LEVI et PORTE, 1962), en tenant compte de la forme sphéruleuse des corbeilles.

Il n'y a pas ici d'ectosome; une mince couche de mésenchyme double les exopinacocytes, et les corbeilles vibratiles vont jusqu'à la périphérie de l'éponge.

Le mésenchyme est plus ou moins développé selon les parties de l'éponge, c'est au voisinage de la cavité atriale qu'il est le plus abondant et il constitue, avec les endopinacocytes, les diverticules qui s'observent dans l'atrium. On voit dans le mésenchyme diverses catégories cellulaires (fig. 5). Des amoebocytes à protoplasme plus abondant, émettant des lobopodes, des amoebocytes à protoplasme hyalin et à gros noyaux. Nous n'avons pas vu d'éosinophile.

La substance fondamentale du mésenchyme, qui a l'aspect de gelée, est secrétée, pensons-nous, par les collencytes, sorte de cellules araignées, situées en plein mésenchyme ou logées par une ou deux, rarement plus, dans les vacuoles creusées dans la mésoglée.

Nous avons enfin vu des cellules ovoïdes, dont les fins et longs prolongements parcourent la substance fondamentale du mésenchyme et qui sont peut-être des cellules de type nerveux.

Si on fait des coupes perpendiculaires aux cheminées et aux lobes dressés de l'éponge, la structure est simple. Extérieurement est une couche d'exopinacocytes, au centre un large canal exhalant, diverticule atrial, tapissé d'endopinacocytes

(Pl. III, *b*). Entre les deux sont les corbeilles vibratiles arrondies, très proches les unes des autres, séparées par un mésenchyme peu abondant. De la surface, partent les canaux inhalants, largement ouverts, qui se ramifient envoyant des diverticules vers les corbeilles vibratiles.

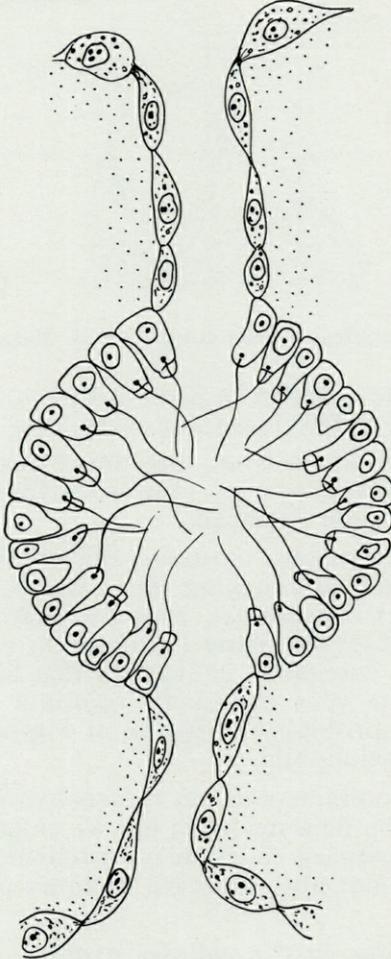


Fig. 4. — Une corbeille vibratile avec les canaux inhalant et exhalant. Trichromique de P. Masson ($\times 1\ 000$).

La partie basale de l'Éponge, la plus importante, celle au-dessus de laquelle s'élèvent les diverticules lobés et les cheminées osculaires, montre la cavité atriale tapissée comme les canaux exhalants de pinacocytes de grande taille. Des diverticules

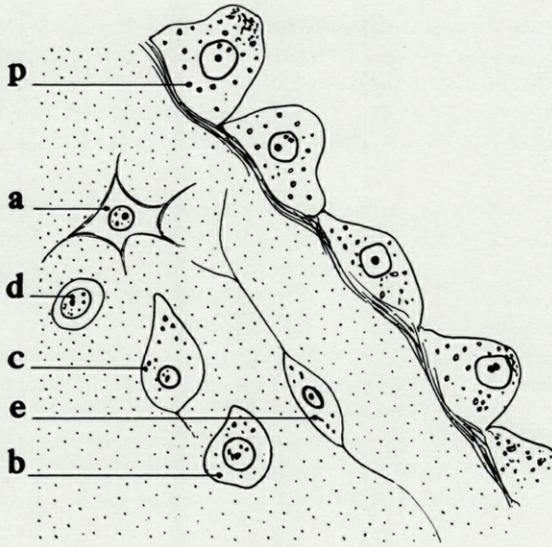


Fig. 5. — Portion du mésenchyme au voisinage de l'atrium. a, collenocyte; b, archéocyte; c, amœbocyte; d, petit amœbocyte hyalin; e, cellule de type nerveux; f, endopinacocyte. Hématoxyline ferrugine de Heidenhain ($\times 1\ 000$).

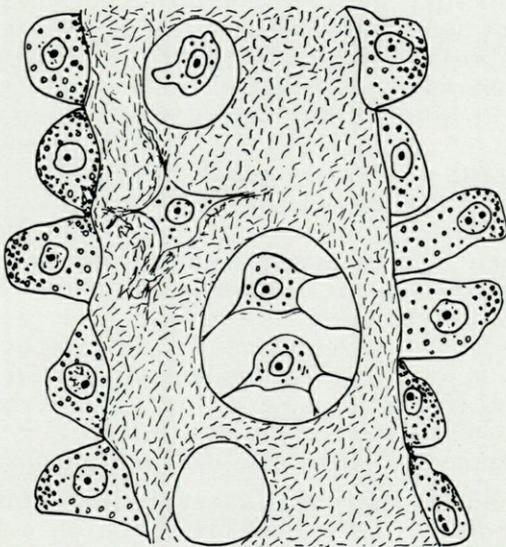


Fig. 6. — Fragment d'un cordon de mésenchyme de l'atrium. Trichromique de P. Masson ($\times 1\ 000$).

du mésenchyme tapissé d'endopinacocytes (fig. 6 et Pl. III, a) se détachent de la paroi de l'atrium. Ils sont comparables à ceux qui ont été décrits chez *Oscarella lobularis*, mais moins développés. Les larves peuvent être logées dans ces cordons, mais elles sont le plus souvent dans le mésenchyme de la périphérie de l'atrium.

La base de l'éponge a une structure très particulière que l'on n'a jamais décrite chez *Oscarella lobularis*. Elle est faite d'un tissu dense qui a un aspect alvéolaire. La périphérie des alvéoles (Pl. IV, a), fibrillaire, correspond au mésenchyme limitant les corbeilles vibratiles, les choanocytes donnant, comme nous allons le voir, le tissu occupant le centre des alvéoles. La partie de l'éponge qui est au contact du substrat ne montre plus ni cellules, ni noyaux (Pl. IV, b). C'est une masse de protoplasme granuleux entourant des vacuoles. Les travées fibrillaires portent de nombreux granules réfringents, au niveau desquels est une zone se colorant fortement en rouge par la réaction de Feulgen.

On peut suivre tous les stades de la formation de ce tissu. Les choanocytes s'accroissent, perdent leur collerette et leur flagelle, le protoplasme devient granuleux (fig. 7, A). Le noyau, qui était à la partie postérieure du choanocyte normal, devient antérieur. Le noyau se gonfle alors et sa chromatine se résoud en granules colorables par la réaction de Feulgen. Les choanocytes se gonflant de plus en plus occupent la presque totalité de la cavité de la corbeille (fig. 7, B). Au fur et à mesure que les noyaux des choanocytes disparaissent, on voit apparaître autour des corbeilles des granules qui, sur les préparations sont réfringents et ocre et qui, après la réaction de Feulgen, correspondent à une zone où cette réaction est positive. Nous n'avons pu déterminer si ce sont les granules eux-mêmes qui sont Feulgen positif, ou si la coloration rouge correspond à de l'acide désoxyribonucléique provenant des noyaux qui ont dégénéré et qui, finalement, se transforme en pigment mélanique ocre. Pendant ces processus de dégénérescence, les corbeilles vibratiles se tassent les unes contre les autres, les canaux inhalants et exhalants disparaissent. Les noyaux des endopinacocytes qui les bordaient ont contribué à former la zone pigmentaire Feulgen positive qui commence d'ailleurs souvent à apparaître avant que les noyaux des choanocytes aient complètement disparu.

Finalement, ainsi que nous l'avons dit plus haut, on ne distingue plus de limites cellulaires (fig. 7, C), on a simplement, à la place de chaque corbeille vibratile, une masse de protoplasme granuleux et vacuolaire. Ce tissu de dégénérescence est

plus ou moins abondant selon les Éponges; dans certains cas il entoure une partie de l'atrium. Le plus ou moins grand développement de ce tissu doit être lié à l'état physiologique de l'Éponge, mais il n'est pas en liaison avec la formation des produits génitaux. Nous ne l'observons pas, par exemple, chez les Éponges mâles, dans les parties bourrées de follicules testiculaires qui montrent des corbeilles intactes. Il est, dans ces individus, cantonné à la base de l'Éponge.

Nous avons, en effet, au mois d'août et de septembre, observé des Éponges en pleine spermatogenèse (Pl. V, a), nous en avons vu d'autres avec des larves en fin de développement, mais nous

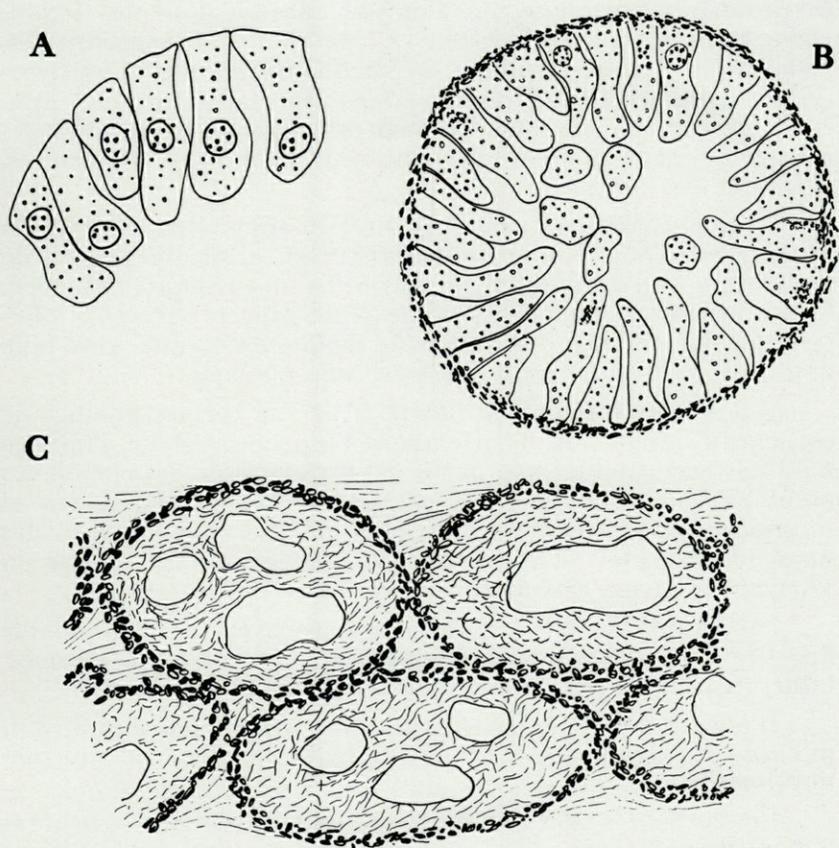


Fig. 7. — Formation du tissu basal : A, début de la dégénérescence d'une corbeille vibratile. Hématoxyline ferrique de Heidenhain ($\times 2\ 000$); B, dégénérescence plus avancée. Réaction nucléale de Feulgen ($\times 1\ 000$); C, tissu basal. Réaction nucléale de Feulgen ($\times 1\ 000$).

n'avons pas encore trouvé l'ovogenèse et le début du développement des œufs. C'est pourquoi, nous réservons pour un travail ultérieur l'étude de la spermatogenèse que nous espérons pouvoir traiter avec celle de l'ovogenèse et des premiers stades du développement.

Nous avons cependant vu que les larves sont du type *Oscarella* (Pl. V, b). Elles sont très voisines de celles décrites par MEEWIS chez *Oscarella lobularis*, ce sont des larves du type *amphiblastula*, alors que les larves des *Halisarca* sont du type *parenchymula* (LEVI, 1953-1956). LEVI attache une grande importance à cette différence du type larvaire, puisqu'en se basant sur ce caractère, il propose une nouvelle classification des *Demospongiae* avec deux sous-classes : *Céractinomorphes* (groupe *Halisarca*) larves *parenchymula*, *Tétractinomorphes* (groupe *Oscarella*) larves *amphiblastula*. Les sexes sont, pensons-nous, séparés, car certains individus ne montrent que de la spermatogenèse et pendant la même période, ceux hébergeant des larves, n'ont que des larves.

L'Éponge que nous venons de décrire appartient à la famille des *Oscarellidae* qui, d'après ARNDT (1938) serait une famille de l'ordre des *Tetraxonida* et du sous-ordre des *Homosclerophora*. Cette famille ne comporte qu'une seule espèce *Oscarella lobularis* (si l'on en excepte *Oscarella malbonensis*, qui, ainsi que nous l'avons dit plus haut, n'est pas une Éponge).

Elle diffère d'*Oscarella lobularis* par un certain nombre de caractères importants. Tout d'abord l'aspect extérieur, l'Éponge n'est pas encroûtante; une partie est dressée avec des cheminées osculaires bien développées. Elle ne montre pas de cortex et le mésenchyme, peu développé, contient des collencytes et des amoebocytes, mais il n'y a pas de fibrilles, caractères qui la séparent du genre *Halisarca*.

Les exopinacocytes et les endopinacocytes ne sont jamais flagellés. Les endopinacocytes peuvent atteindre une grande taille, ils sont alors plus gros que les choanocytes.

Il n'y a pas d'hypophare au sens de TOPSENT, mais un atrium qui contient des cordons de mésenchyme, le plus souvent peu développés.

Les corbeilles sont régulières, de taille semblable et généralement arrondies. Il existe enfin un tissu profond, très particulier, provenant de la dégénérescence des chaonocytes, des cellules du mésenchyme et des endopinacocytes des canaux inhalants et exhalants.

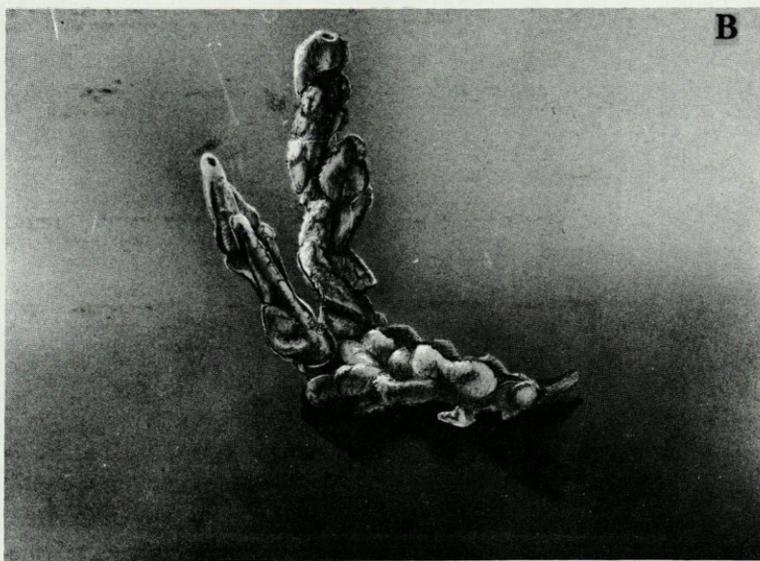
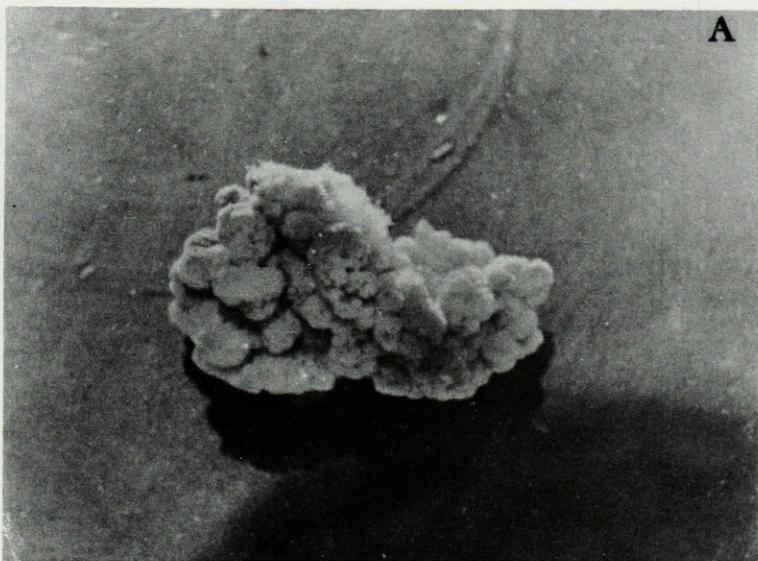


Planche I. — *Octavella galangai* n. g., n. sp. : A, photographie d'un spécimen grandeur nature; B, dessin d'un individu dressé avec cheminées osculaires.

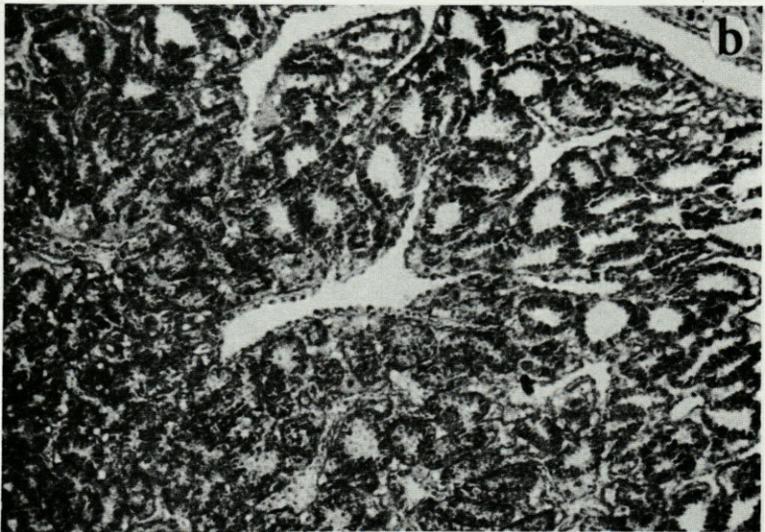
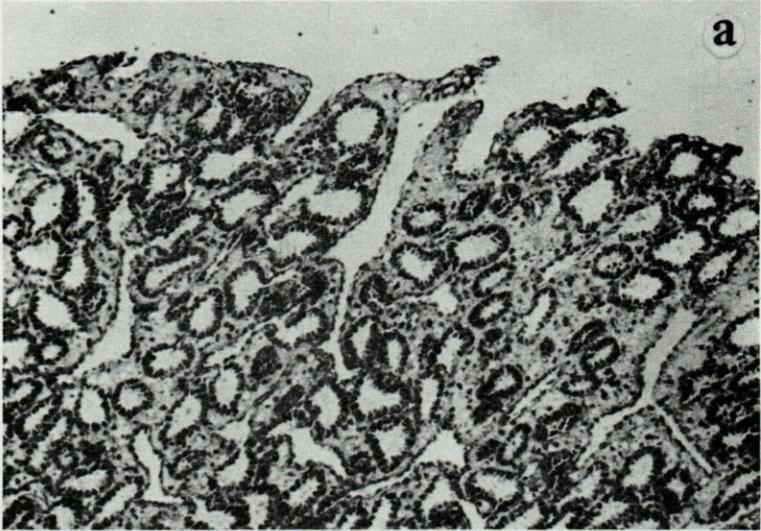


Planche II. — a, partie périphérique; b, endopinacocytes.

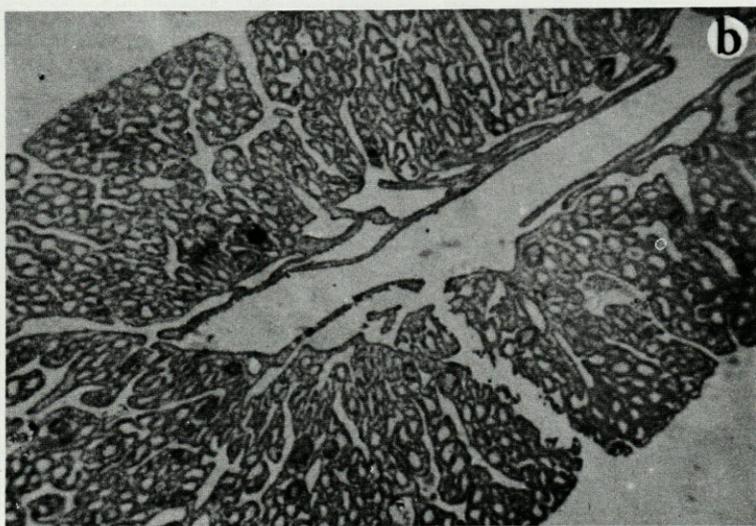
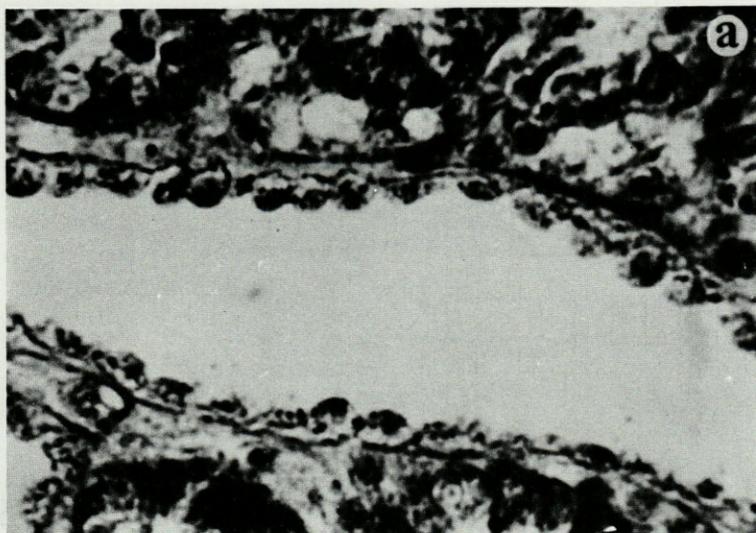


Planche III. — a, cordons de mésenchyme dans l'atrium, avec endo-
pinacocytes périphériques; b, coupe à travers les tissus d'une cheminée
osculaire.

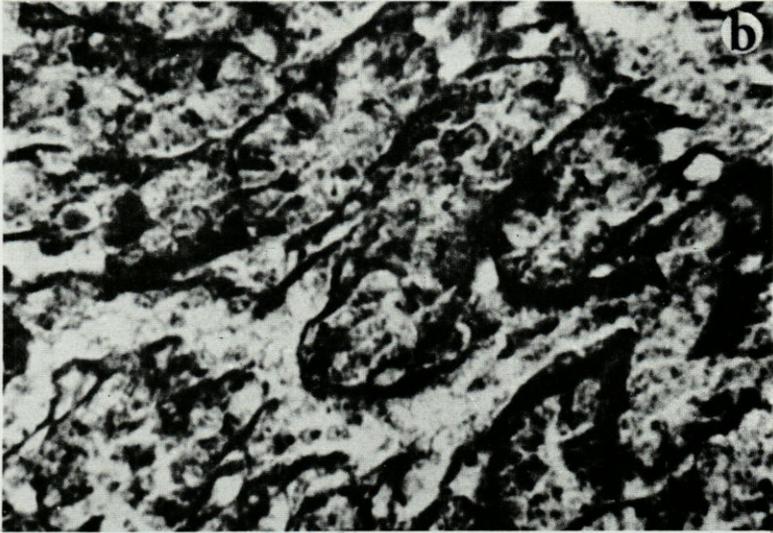
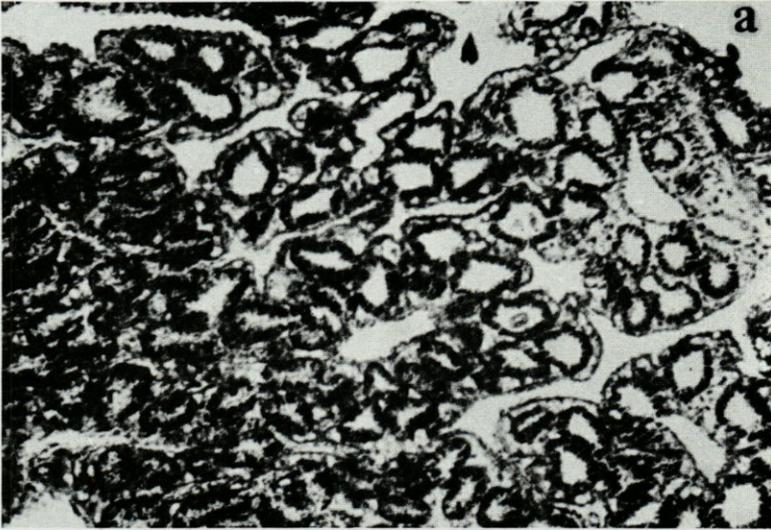


Planche IV. — a, les deux tissus : choanosome (en haut à droite) et tissu basal (en bas à gauche). On remarquera les stades de formation du tissu basal; b, tissu basal plus grossi montrant qu'il n'y a plus que quelques cellules visibles.

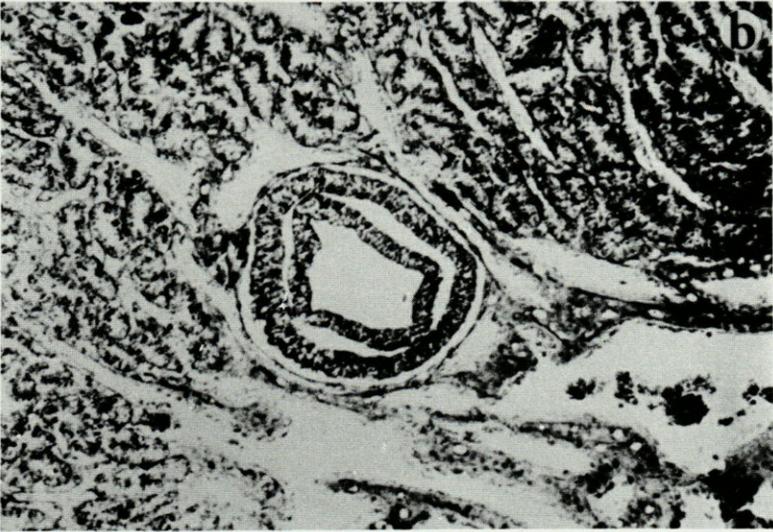
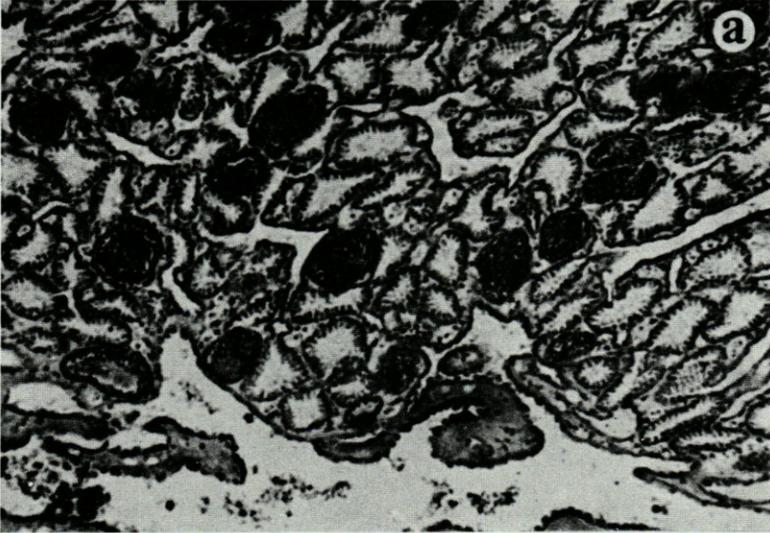


Planche V. — a, éponge avec follicules spermatogénétiques; b, larve.

Les caractères qui séparent l'Éponge que nous avons trouvée à Banyuls, d'*Oscarella lobularis* sont si nombreux et, nous semble-t-il, si importants, que nous ferons de cette Éponge un genre nouveau rattaché à la famille des *Oscarellidae*. Nous nommerons ce nouveau genre (en suivant en cela SCHULZE) *Octavella* en souvenir de notre Maître Octave DUBOSCQ et nous lui donnerons comme nom d'espèce *galangau*, le dédiant ainsi à Monsieur Michel GALANGAU, Aide Technique spécialisé au Laboratoire Arago, qui nous a porté le premier exemplaire de cette nouvelle Éponge, en nous disant qu'il n'en avait jamais observé de semblable, parmi les nombreuses Éponges qu'il avait récoltées depuis des années à Banyuls.

Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer,
et Laboratoire de Zoologie,
Faculté des Sciences, Montpellier

AUTEURS CITÉS

- ARNDT, W., 1935. — Porifera. Die Tierwelt der Nord und Ostsee. Leipzig.
- BARROIS, Ch., 1876. — Mémoire sur l'embryologie de quelques éponges de la Manche. *Ann. Sc. Nat.*, 6^e série, 3 : 1-84.
- CARTER, H.J., 1874. — On the spongozoa of *Halisarca dujardini*. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, (4) 13 : 315-316.
- DOMANTAY, J.E., 1953. — A new species of askeletal sponge, *Oscarella malabonensis*, destructive to oysters under cultivation around Dagat-dagatan Salt-Water. *Fisherey experimental station, Malabon, Rizal. Philippines Bur. of fisheries, Philippine fisheries; a handbook*, Manilla, 153-156.
- DOMANTAY, J.E., 1955. — Rectification of *Oscarella malabonensis*, a spongiomorphe mass formed by myriad of tiny animals, mostly tubedwelling Amphipods, Polychaetes and Turbellarium. *The Philippine Journ. of Science*, 84 (3) : 335-341.
- LEVI, Cl., 1953. — Sur une nouvelle classification des Démonsporges. *C.R. Acad. Sc.*, 236 : 853-855.
- LEVI, Cl., 1956. — Etude des *Halisarca* de Roscoff. Embryologie et systématique des Démonsporges. *Arch. Zool. exp.*, 93 : 1-184.
- LEVI, Cl. et PORTE, A., 1962. — Etude au microscope électronique de l'éponge *Oscarella lobularis* Schmidt et de sa larve amphiblastula. *Cahiers de Biologie marine*, 3, 307-315.
- MEEWIS, H., 1939. — Contribution à l'étude de l'embryologie des Myxospondigidae : *Halisarca lobularis* Schmidt. *Arch. de Biol.*, 50, 3-65.
- MONOD, Th., 1955. — Sur un nouveau *Corophium* constructeur de masses spongiomorphes aux Phillipines. *Bull. du Mus.*, 2^e série, 27, 196-206.
- SCHMIDT, O., 1862. — Die Spongien der Adriatischen Meeres. Leipzig, 1862.

- SCHULZE, F.E., 1877. — Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Spongien. III. Die Gattung *Halisarca*. *Zeitschr. für wiss. Zool.*, 28 : 1-48.
- TOPSENT, E., 1895. — Etude monographique des Spongiaires de France. II. *Carnosa*. *Arch. Zool. Exp.*, 3, 3^e série : 493-590.
- TOPSENT, E., 1944. — *Halisarca* Dujardin et *Oscarella* Vosmaer. *Bull. Inst. Océan.*, 875.
- VOSMAER, G.C., 1887. — Klasse und Ordnung der Spongien. *Bronn's Tierreich*, Leipzig et Heidelberg, 1887.

NOTE PRÉLIMINAIRE
SUR LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE
DE *AMPHIURA CHIAJEI* (FORBES)

par Lucienne FENAUX

Peu d'ophiures ont un développement larvaire bien connu, et nombreux sont les ophioplutés pélagiques qui n'ont pu être rattachés à un adulte. Dans le cadre de nos études sur les larves d'Echinodermes, il nous a paru intéressant d'étudier celui de *Amphiura chiajei* (Forbes).

MATÉRIEL ET TECHNIQUES EMPLOYÉES

Dans la baie de Villefranche-sur-Mer, un fond vaseux, situé à environ 20 mètres de profondeur, nous a fourni un important matériel de *Amphiura chiajei*.

Nous avons essayé deux procédés pour en obtenir des embryons.

a) Nous avons disséqué les ophiures, prélevé les gonades mâles et femelles et tenté une fécondation artificielle.

b) Nous avons en même temps pratiqué la technique utilisée avec succès par GRAVE (1916) pour *Ophioderma brevispina* et qui consiste à exposer les ophiures à la lumière, pendant deux ou trois heures avant la tombée de la nuit. Les ophiures étaient placées dans un cristalliseur contenant cinq litres d'eau de mer filtrée, avec un dispositif permettant l'aération de l'eau. C'est

ainsi que nous avons pu obtenir le 22 septembre 1962, la ponte de *Amphiura chiajei*.

Nous supposons que la ponte a eu lieu dans la nuit du 22 au 23 septembre. En effet, le 23 septembre, nous avons trouvé dans l'eau de mer des blastula ciliées. Celles-ci furent placées dans de l'eau de mer filtrée fraîche. Des prélèvements d'embryons suivis de fixations, soit au formol, soit à l'alcool 70°, ont été faits régulièrement afin de suivre l'évolution du squelette.

SQUELETTE CALCAIRE CHEZ LA LARVE DE *Amphiura chiajei*

Afin de mieux comprendre les particularités du squelette de la larve de *Amphiura chiajei*, rappelons que chez un ophioplutéus pélagique complet, comme celui de *Ophiura albida*, le squelette calcaire soutenant la larve est constitué de deux ensembles symétriques s'affrontant sur la ligne médiane. Chaque ensemble comporte :

— une baguette somatique dont l'extrémité se ramifie chez certains ophioplutéus et forme un système complexe utilisé dans les déterminations spécifiques;

— une baguette postéro-latérale, simple et épineuse dans la plupart des cas, parfois perforée (chez l'ophioplutéus de *Ophiura texturata*) prolongeant la baguette somatique dans les appendices postéro-latéraux;

— à la jonction de la baguette somatique et de la baguette postéro-latérale naissent : une baguette antéro-latérale, qui se courbe et pénètre dans l'appendice antéro-latéral et une baguette post-orale soutenant l'appendice post-oral.

— la baguette postéro-dorsale se forme à partir de la branche antéro-latérale.

Les trois dernières baguettes ne sont jamais perforées, mais ornementées d'épines.

Chez la larve de *Amphiura chiajei*, de chaque côté de l'invagination gastruléenne, nous avons pu observer la première ébauche du squelette, constituée par deux spicules tétraradiés (fig. 1c).

La branche qui deviendra la baguette somatique est légèrement arquée. Dans son prolongement se trouve la baguette postéro-latérale. Quant aux deux autres spicules ils se développeront peu. En effet, si le bourrelet antéro-latéral se forme tôt, aucune encoche ne se développera pour former deux appendices antéro-latéraux. Pourtant ce bourrelet sera soutenu par des spicules qui,

nés à la jonction des baguettes somatiques et postéro-latérales, se sont courbés et y ont pénétré.

Aucune ébauche d'appendices post-oraux ne se forme et le quatrième spicule se développe peu et ne se courbe pas pour soutenir la partie anale située entre les bras postéro-latéraux.

Les deux branches somatiques sont au départ simples, puis leur extrémité se divise en trois (fig. 2, a). Il se forme une branche descendante ou baguette terminale et deux branches latérales qui se croisent dorsalement et ventralement avec leurs symétriques.

Les baguettes terminales présentent deux ou trois épines sur le côté externe.

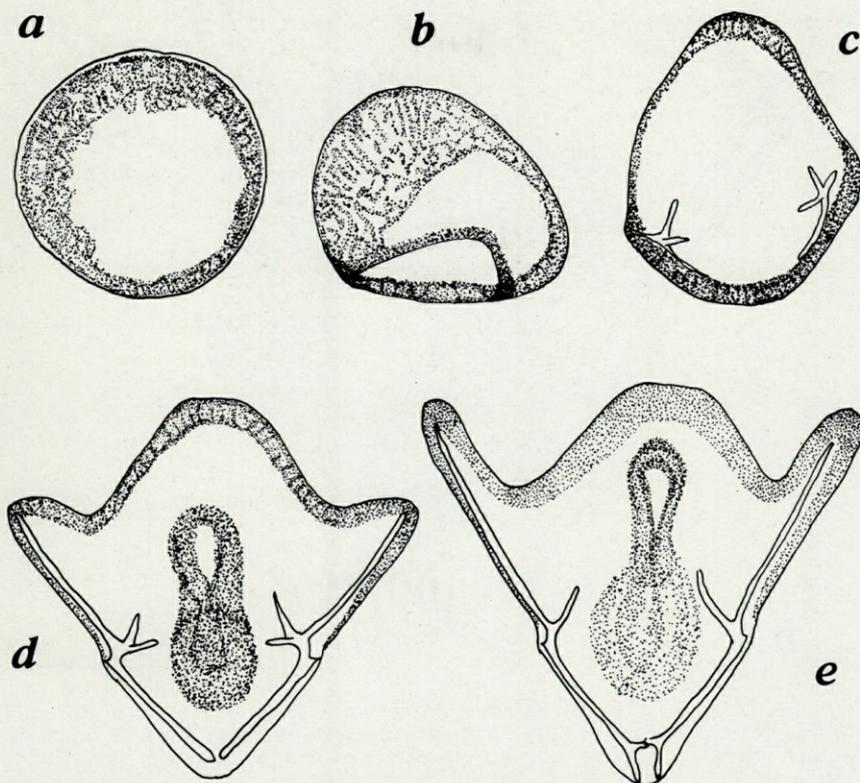


Fig. 1. — a, blastula (taille 297 microns); b, gastrula; c, formation des spicules calcaires (taille 315 microns); d, e, développement des appendices postéro-latéraux et des baguettes calcaires qui les soutiennent. L'ensemble baguette somatique et baguette postéro-latérale mesure 522 microns.

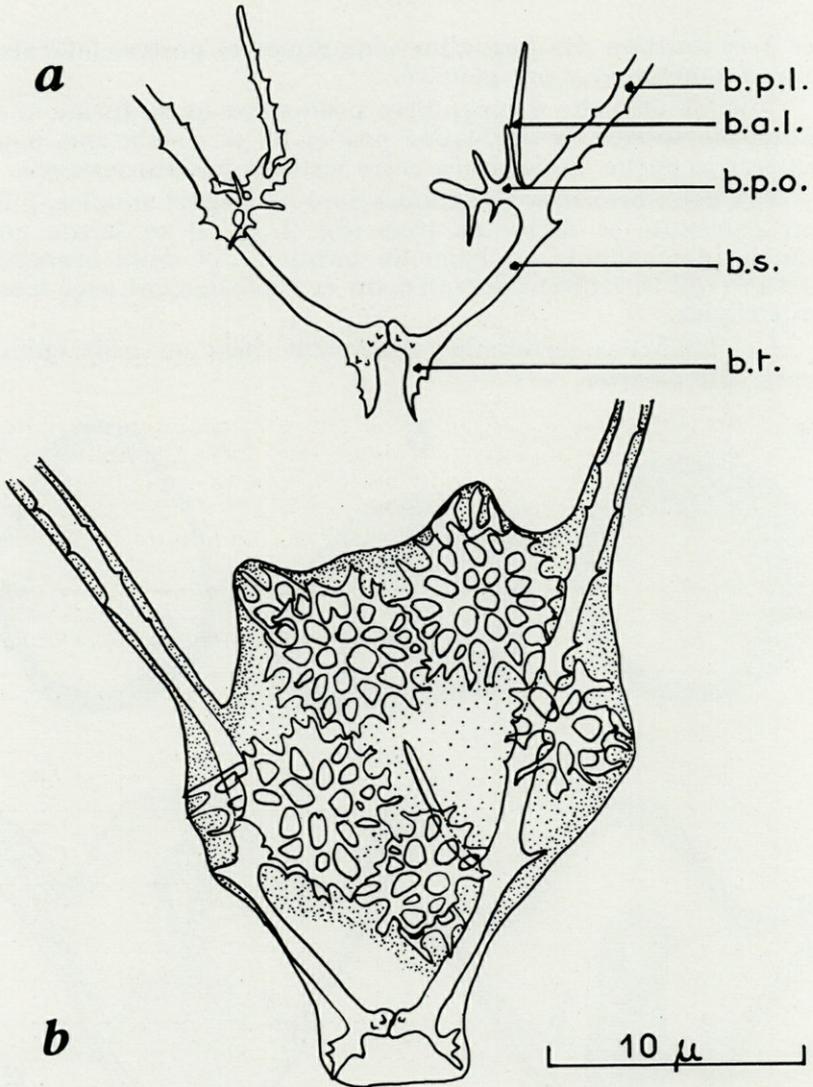


Fig. 2. — *a*, squelette calcaire d'une larve de *A. chiajei* âgée de trois jours. Abréviations : b.p.l. = baguette postéro-latérale; b.a.l. = baguette antéro-latérale; b.p.o. = baguette post-orale; b.s. = baguette somatique; b.t. = baguette terminale. *b*, formation des plaques calcaires chez la larve âgée de six jours.

La baguette postéro-latérale porte de fortes épines tant du côté interne que du côté externe.

La baguette antéro-latérale est épineuse.

La baguette post-orale courte, de direction équatoriale, présente de fortes dents.

Six jours après la ponte, nous avons observé les spicules calcaires, ébauches des plaques grillagées du jeune *Amphiura chiajei*. La métamorphose était complète après huit jours.

DISCUSSION

La vie pélagique de cet ophioplutéus doit être brève. En effet dans nos conditions d'expérimentation où la température variait entre 18 et 20° C, nous avons pu assister à la métamorphose après huit jours.

Cette réduction de la vie pélagique est accompagnée d'une réduction du nombre des appendices larvaires. En nous inspirant de FELL (1948), nous pouvons établir le tableau suivant pour les espèces méditerranéennes : *Ophiura albida*, *Amphiura filiformis*, *Amphiura chiajei*, *Amphipholis squamata* (fig. 3).

stades	espèces			
	<i>O. albida</i>	<i>A. filiformis</i>	<i>A. chiajei</i>	<i>A. squamata</i>
Oeuf				
Blastula				
Gastrula				
Larve sans bras				
Larve à 2 bras				
Larve à 6 bras				
Larve à 8 bras				
Jeune ophiure				

Fig. 3. — Comparaison des temps requis pour arriver à la métamorphose chez les quatre espèces : *Ophiura albida*, *Amphiura filiformis*, *Amphiura chiajei*, *Amphipholis squamata*.

La larve de *Ophiura albida* présente le nombre maximal d'appendices, soit quatre paires. Celle de *Amphiura filiformis* ne possède pas d'appendices postéro-dorsaux et met un temps plus court pour parvenir à la métamorphose. La larve de *Amphiura chiajei* présente un développement encore plus raccourci, et seuls les bras postéro-latéraux se développent.

Les représentants méditerranéens de la famille des *Amphiuridae* présentent donc des développements larvaires raccourcis et un stade intermédiaire entre une larve à vie pélagique relativement longue comme celle de *Amphiura filiformis* et un embryon vivipare comme celui de *Amphipholis squamata*, se trouve illustré chez les larves de *A. chiajei* et *A. mediterranea* (en préparation).

Le développement larvaire de l'ophiure *Amphiura chiajei* est étudié. L'ophioplutéus qui se développe est caractérisé par une réduction du nombre des appendices et par une vie pélagique brève.

Station zoologique,
Villefranche-sur-Mer.

BIBLIOGRAPHIE

- FELL, H. Barraclough, 146. — The embryology of the viviparous ophiuroid *Amphipholis squamata* Delle Chiaje. *Trans. Proc. N. Z. Inst.*, 75 : 419-464.
- FELL, H. Barraclough, 1948. — Echinoderm embryology and the origin of the chordates. *Biol. Rev.*, 23 : 81-107.
- FEWKES, J.W., 1887. — On the development of the calcareous plates of *Amphiura*. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, Harvard, 13 : 107-150.
- GRAVE, C., 1916. — *Ophiura brevispina*. II. An embryological contribution and a study of the effect of yolk substance upon development and developmental processes. *J. Morph.*, 27 : 413-451.
- MULLER, J., 1846. — Abhandlung über die Larven und die Metamorphose der Echinodermen. I. *Abhandl. d. Preussischen Akad. d. Wiss zu Berlin aus den Jahren*, Taf. I-II, figs. 1-6.
- MORTENSEN, Th., 1901. — Die Echinidermenlarven Nordisches Plankton, 9, fig. 21.
- THORSON, G., 1946. — Reproduction and larval development of Danish marine bottom invertebrates, with special references to the planktonic larvae in the Sound (Øresund). *Medd. Komm. Danmarks Fisk. Havund., Ser. Plankton*, 4 (1), 523 pp. (Echinodermata : 343-367).

SUR UNE GRÉGARINE PARASITE DE COPÉPODES PÉLAGIQUES

par Marie-Odile GOBILLARD

Au cours de recherches sur les parasites de Copépodes planctoniques, entreprises au Laboratoire Arago de Banyuls-sur-Mer, j'ai eu l'occasion de recueillir un certain nombre de Copépodes parasités par une Grégarine (1).

LIEU DE RÉCOLTE. — HÔTES

Les prélèvements contenant les exemplaires parasités ont tous été effectués à un demi-mile au large du cap Bear, à une profondeur de 50 mètres. J'ai trouvé, les 14-20-25/10/61, le 11/12/61, les 3-5/5/62 et les 22-29/6/62, 39 Copépodes dont seul le tube digestif renfermait des Grégarines. Ces Copépodes appartenaient à deux espèces :

- *Clausocalanus arcuicornis* Giesbrecht : 19.
- *Calanus gracilis* Dana : 20.

Le nombre des parasites variait de 1 à 8 dans chaque hôte examiné et l'un des *Clausocalanus*, de 1 100 μ , présentait 3 Grégarines, dont l'une, de 176 μ , coexistait avec 2 *Blastodinium*

(1) Je tiens à remercier M. le Professeur GRASSÉ qui a bien voulu examiner mes préparations et me donner de judicieux conseils, ainsi que M. J. THÉODORIDÈS, Maître de Recherches au C.N.R.S., dont l'aide m'a été précieuse. Je remercie également M. le Professeur PETIT qui a bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire.

hyalinum Chatton, l'un mesurant $653\ \mu$ (fig. 1). Toutes ces Grégarines appartenaient à la même espèce.

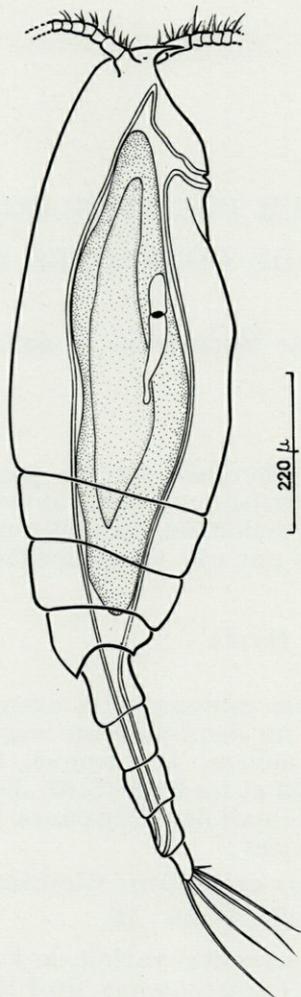


Fig. 1. — *Clausocalanus arcuicornis* G. montrant un grand *Blastodinium hyalinum* Ch. et une Grégarine.

TECHNIQUES

Les Copépodes parasités ont été disséqués et leur tube digestif dilacéré. Certaines Grégarines ont été conservées pour

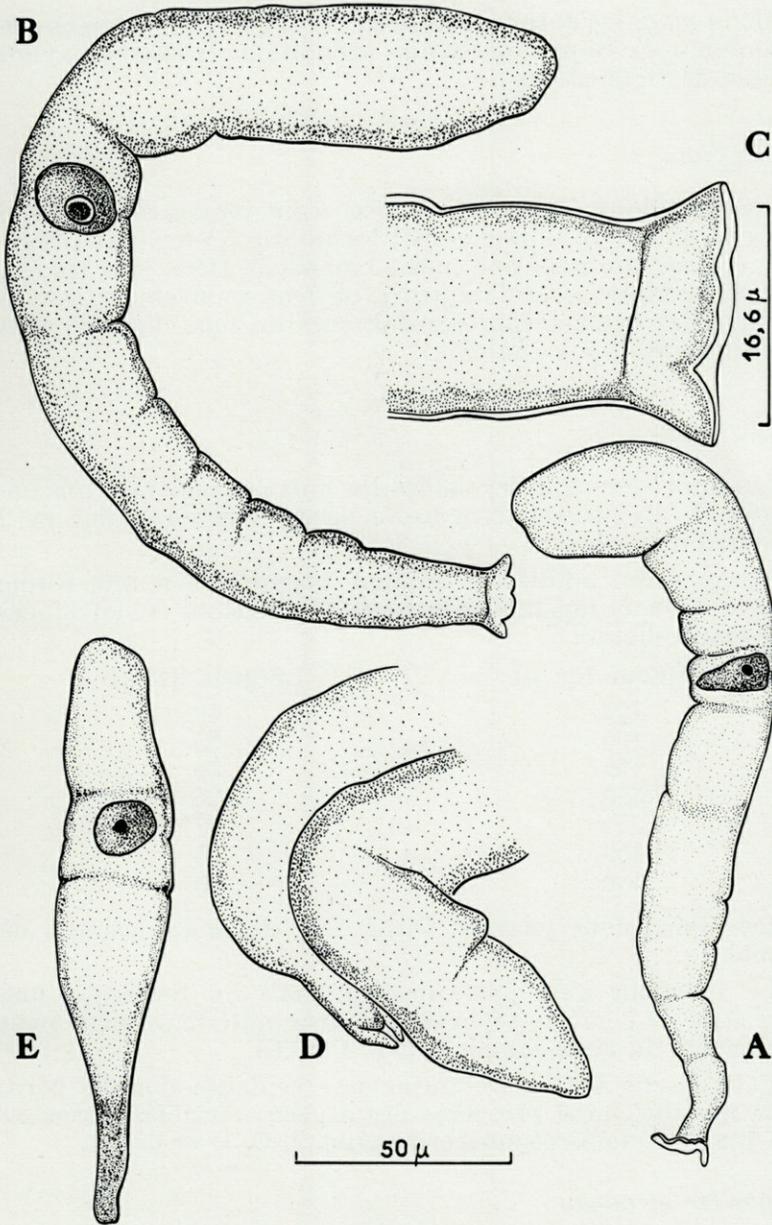


Fig. 2. — A, B, sporadins adultes; C, détail de la partie antérieure; D, profil de la partie antérieure; E, sporadin jeune.

l'étude *in vivo*; les autres, étalées en frottis, ont été colorées soit à l'hémalun de Mayer, au carmin acétique ou à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain.

LOCALISATION

Les individus, isolés ou associés, n'ont jamais été observés fixés à la paroi du tube digestif; lorsqu'il y a plusieurs Grégaires, celles-ci forment une masse compacte. Dans tous les cas, elles se déplacent sous l'influence de leur mouvement propre ainsi que des mouvements péristaltiques du tube digestif; elles se nourrissent de son contenu.

DESCRIPTION

Les sporadins sont les stades les plus couramment rencontrés (fig. 2). Ils peuvent être isolés ou associés en chaîne de 2 à 6 individus.

Le sporadin adulte, de couleur blanchâtre, a une forme mince et allongée (fig. 2, A). Quelques mesures ont été effectuées sur divers individus :

Longueur (en μ)	Largeur (en μ)
100	10
195	25
195	33
350	25
355	27
355	35
180	40

Les dimensions peuvent varier lors de la contraction de l'animal.

Le sporadin n'est pas cloisonné mais on remarque une légère strie de l'épicyte séparant la partie antérieure nettement différenciée, du reste du corps (fig. 2, B, C).

Cette partie antérieure forme une ventouse dont le bord, par sa mobilité, peut présenter des aspects variables, lisses ou lobés plus ou moins régulièrement (fig. 2, C, D et fig. 3).

Cytoplasme et noyau

Le cytoplasme est granuleux et bourré de réserves. Quand l'épicyte présente des constriction, les réserves sont plus com-

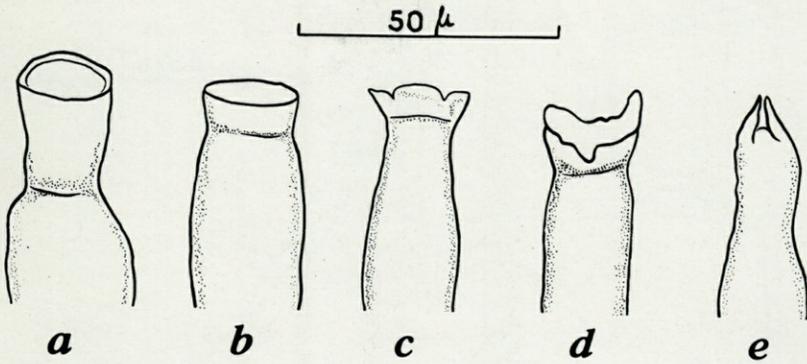


Fig. 3. — *a, b, c, d*, aspects présentés par la partie antérieure; *e*, profil.

pactes à ce niveau ainsi qu'au-dessous de la ventouse et à la périphérie.

Le noyau, de forme ovale, mesure environ $7\ \mu$ sur $12\ \mu$ pour un individu de taille moyenne. Il est situé dans la région médiane et renferme un volumineux nucléole ($5\ \mu$). Le corps est légèrement comprimé à son niveau (fig. 4).

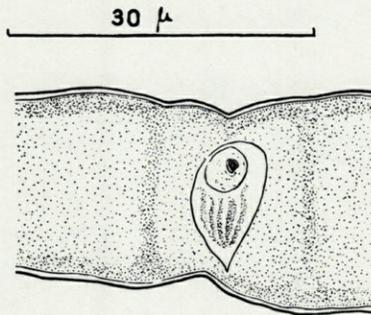


Fig. 4. — Détail de la région du noyau.

Chaînes

Les sporadins sont le plus souvent associés caudo-frontalement en chaînes de 2 à 6 individus (fig. 5); ceux-ci sont doués d'une très grande motilité les uns par rapport aux autres : deux sporadins restent pratiquement immobiles et servent de support au déplacement des autres. Dans les associations par deux, le

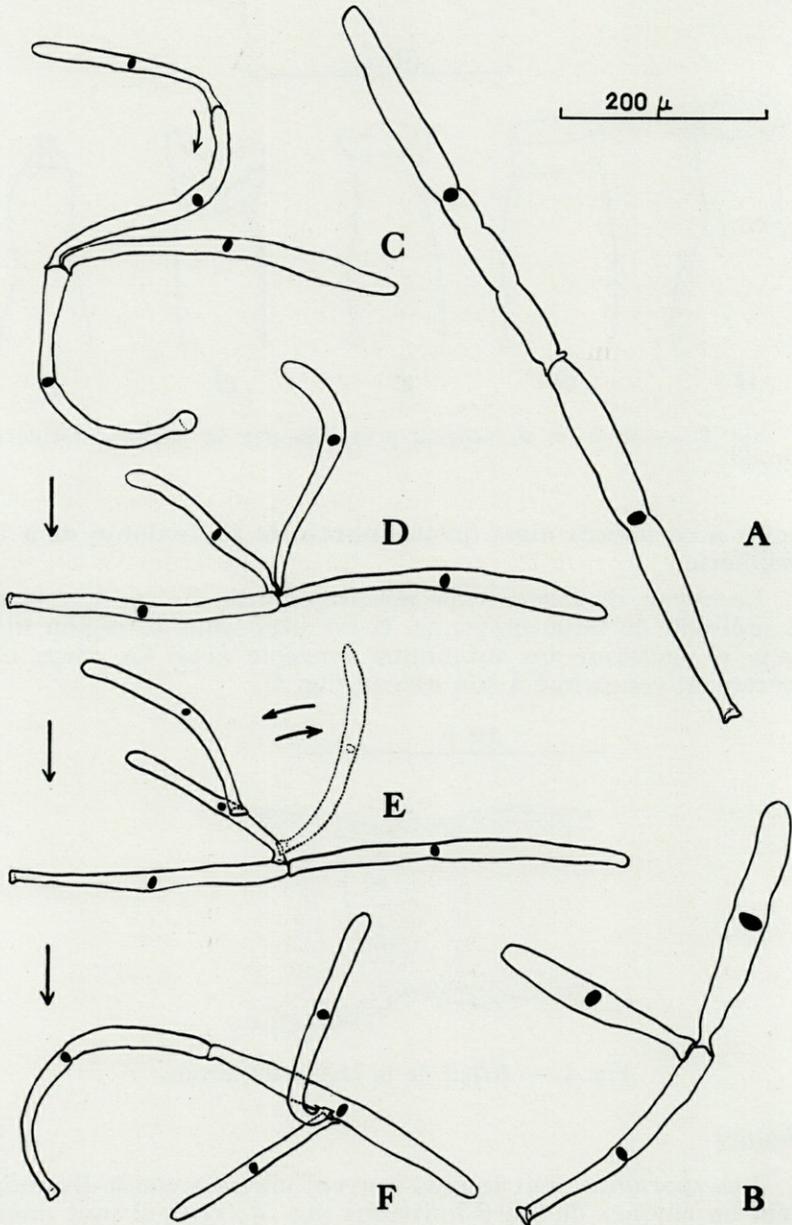


Fig. 5. — Associations. A, chaîne de deux individus; B, chaîne de trois individus; C, D, E, F, schéma montrant les mouvements relatifs des individus d'une chaîne de quatre.

primitive est identique au satellite qui ne présente ni cloison ni strie. Une chaîne double avait $760\ \mu$ de long.

DÉVELOPPEMENT

Seule la phase végétative du cycle a été observée; l'hôte intermédiaire, s'il y en a un, est inconnu.

Dans les 39 Copépodes parasités, je n'ai jamais observé de céphalin fixé sur la paroi du tube digestif ou à un autre endroit du corps mais seulement des stades libres dans l'intestin.

Les sporadins jeunes observés mesuraient de 12 à $45\ \mu$ (fig. 6). Leur entocyte est moins dense et leur forme beaucoup plus ramassée que celle des adultes.

Ils commencent à s'associer dès qu'ils atteignent environ $100\ \mu$; ils sont alors adultes.

Au bout d'un certain temps, un sporadin s'isole, se tasse sur lui-même, s'entoure d'une membrane et forme un kyste solitaire (fig. 6, *e*). Quatre de ces kystes ont été observés au tout premier stade de leur formation mais malheureusement sur des préparations fixées. L'aspect de leur contenu est très granuleux. Nous n'avons donc pu voir ni leur développement ni l'éclosion des spores que nous espérons observer ultérieurement.

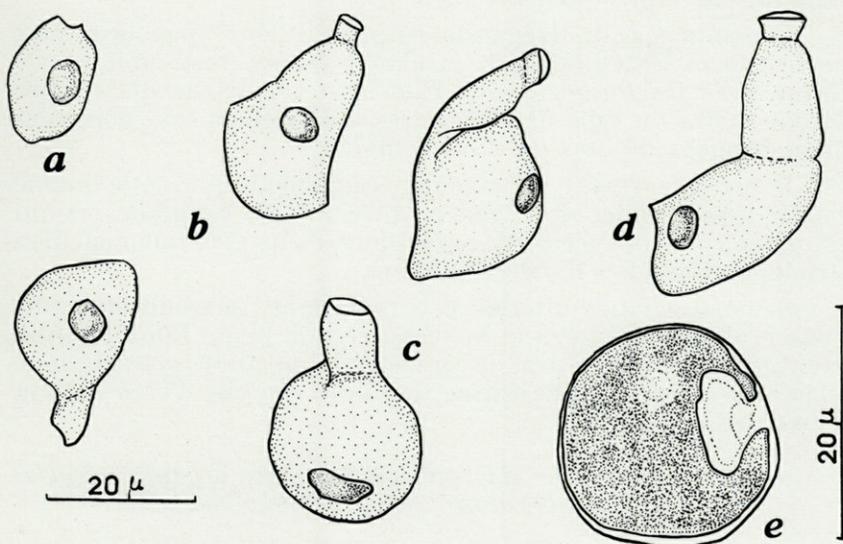


Fig. 6. — *a, b, c, d*, sporadins jeunes; *e*, kyste solitaire.

DISCUSSION

A notre connaissance, APSTEIN (1911) est le premier à signaler la présence de Grégarines chez *Calanus finmarchicus* Gunner et chez *Temora* Baird, matériel récolté au large de Kiel. ROSE (1933) mentionne *Monocystis copiliae* n. sp., Grégarine observée dans un exemplaire de *Copilia vitrea* Haeckel, capturé au large de la Baie d'Alger. JEPPE, en 1937, et MASHALL et ORR (1955) décrivent brièvement une Grégarine trouvée dans quelques *C. finmarchicus*.

Cette forme, nouvelle, diffère passablement de celles décrites assez sommairement par les auteurs précédents, surtout par l'aspect de sa région antérieure.

Elle n'est pas cloisonnée mais ne peut être classée dans la famille des *Monocystidae*, qui comprend exclusivement des parasites d'Annélides Oligochètes.

L'enkystement solitaire, la forme générale, permettent de rapprocher cette Grégarine de la famille des *Porosporidae*, parasites de Crustacés Décapodes; il est en effet possible d'assimiler la partie antérieure en ventouse, séparée de la partie postérieure par une strie, à un épimérite simple du type *Porospora* dont la cloison aurait disparu : la strie de l'épicyte en serait un reliquat (cf. THÉODORIDÈS, 1962).

Cependant, cette Grégarine est parasite de Copépodes, donc de Crustacés Entomostracés, et n'offre qu'une ressemblance de forme avec les *Porosporidae*. Elle n'est jamais localisée à un niveau défini du tube digestif et ses associations sont généralement formées de plus de deux individus.

Il est intéressant de signaler également que cette même espèce a pour hôtes deux genres différents de Calanides ce qui est assez rare, la spécificité parasitaire étant généralement très stricte, surtout chez les *Porosporidae*.

Seule, une étude ultérieure, comprenant l'éclosion du kyste, l'observation des spores et la recherche de l'hôte intermédiaire éventuel nous permettra de préciser la position systématique exacte de cette nouvelle forme que nous tenions d'ores et déjà à signaler ici.

*Laboratoire d'Evolution des Etres organisés, Paris;
Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer.*

BIBLIOGRAPHIE

- APSTEIN, 1911. — Parasiten von *Calanus finmarchicus*. *Wissenschaft Meeresunters.* Kiel, N.F., 13 : 211-213, figs.
- GRASSÉ, P.-P., 1953. — Classe des Grégarinomorphes in *Traité Zool.*, 1 (2) : 639-641, Masson, Paris.
- JEPPE, M.W., 1937. — On Protozoan Parasites of *Calanus finmarchicus* in the Clyde Sea Area. *Quarterly Journ. Microscop. Sc.*, 79 (4) : 603-605.
- MARSHALL, S.M. et ORR, A.P., 1955. — The Biology of a Marine Copepod *Calanus finmarchicus*. 150, Oliver and Boyd, London.
- ROSE, M., 1933. — *Monocystis copiliae* n. sp. Grégarine parasite d'un Copepode pélagique : *Copilia vitrea*, Haeckel. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 24 : 357-359.
- THÉODORIDÈS, J., 1962. — Grégarines d'Invertébrés marins de la région de Banyuls. I. Eugrégarines parasites de Crustacés Décapodes. *Vie et Milieu*, 13 (1) : 95-122.

ÉTUDE SUR LES AMPHIPODES II.

SALENTINELLA PETITI n. sp.

par Nicole COINEAU

En vue de l'étude systématique et biologique des Amphipodes souterrains, de nombreux prélèvements ont été effectués dans la nappe phréatique de différents cours d'eau. L'un d'eux a permis la récolte, en Dordogne, d'un petit Gammarien appartenant au genre *Salentinella* Ruffo. Il s'agit d'une nouvelle espèce, que je dédie en respectueux hommage à M. le Professeur PETIT, Directeur du Laboratoire Arago.

SALENTINELLA PETITI n. sp.

Station : nappe phréatique de l'Isle, puits S₁, commune de Savignac-les-Eglises (Dordogne).

Un seul individu a été récolté, le 28-9-62, en filtrant l'eau du puits. Les préparations de cet exemplaire unique, qui est donc l'holotype, sont déposées dans la collection du Laboratoire Arago à Banyuls-sur-Mer (P.-O.), sous le numéro B V a 7 g 0001.

L'animal, blanc grisâtre, au corps peu aplati latéralement, mesure 1,4 mm en extension.

PROSOME

Longueur égale à celle du premier segment du mésosome. Lobes latéraux très développés, dépassant largement le premier article de l'antenne I et arrondis en avant. Absence d'yeux.

Antennes I (fig. 1, A) : élancées, elles atteignent le quart de la longueur du corps. Le pédoncule, beaucoup moins trapu que celui des espèces *angelieri* et *delamarei*, comprend trois articles de longueur décroissante vers le sommet : le second égale les 2/3 du premier; le troisième, égal au 1/3 du premier, se termine en une gaine lamelleuse ornée d'une soie pennée qui enserre la base du flagelle accessoire. Le flagelle principal, composé de quatre articles particulièrement grêles, est aussi long que le pédoncule. Premier article atteignant un peu plus des 3/2 du second, lui-même égal au dernier. Chacun d'eux, excepté le dernier, porte un long bâtonnet sensitif présentant un étranglement. A l'apex du dernier article, s'insèrent une très courte tige sensitive sans étranglement encadrée par deux épaisses soies, et deux fines soies plus longues. Flagelle accessoire uniarticulé, égal aux 3/4 du premier article du flagelle principal, avec deux soies au niveau du dernier tiers, et quatre soies terminales dont une pennée.

Antennes II (fig. 1, B) : plus courtes que les antennes I; les deux derniers articles du pédoncule particulièrement longs : l'avant-dernier est plus long que le flagelle, tandis que le dernier égale sa longueur. Apex de ces deux articles garni de plusieurs soies pennées (cinq au dernier article). Flagelle tétraarticulé, au premier article très court et glabre; articles suivants de plus en plus courts vers le sommet; un seul petit bâtonnet hyalin terminal.

Les antennes ne s'éloignent donc pas de celles des autres espèces, sauf *S. gineti*, mais sont relativement plus longues et plus élancées, en particulier les premières dont le flagelle atteint la longueur du pédoncule.

La structure de l'appareil buccal se rapproche beaucoup de celle des autres espèces.

Mandibules (fig. 2, A et B) : *pars incisiva* et *lacinia mobilis* quadridentées. Processus molaire bien développé, présentant à sa partie inférieure une très longue soie qui ne semble pas pennée, dirigée vers la base de la mandibule. Deux courtes soies prennent naissance entre le bord tranchant et la lame accessoire. Le palpe, moins robuste que chez les autres espèces,

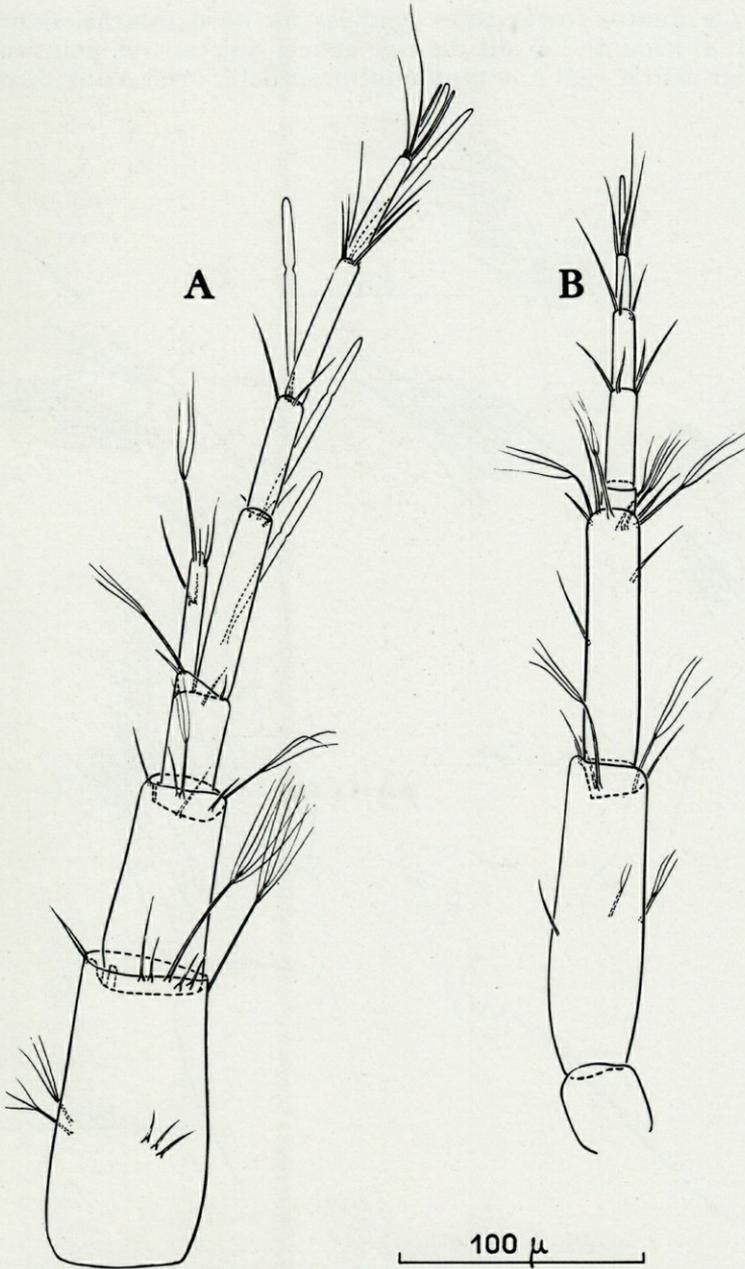


Fig. 1. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, antenne I; B, antenne II.

présente quatre fortes soies pennées au bord interne, dans la région apicale de l'avant dernier article qui est très peu renflé. Dernier article égal à la moitié du précédent, orné d'une dizaine

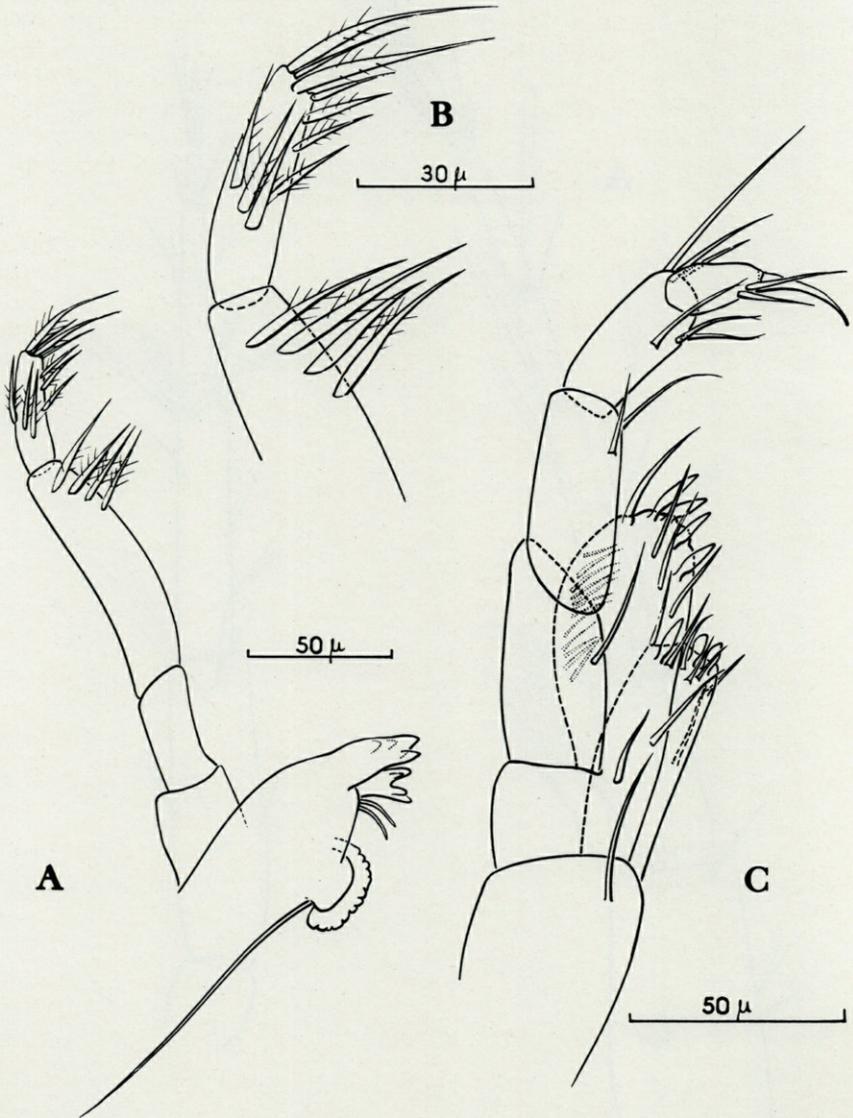


Fig. 2. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, mandibule; B, détails des deux derniers articles du palpe mandibulaire; C, maxillipède.

de soies, dont quatre terminales (alternativement pennées et non pennées), et trois au bord interne.

Maxilles I (fig. 3, B) : lobe interne avec deux fortes soies subdistales et une plus courte au-dessous. Lobe externe plus large et plus long que le lobe interne, présentant neuf épines distales; quatre d'entre elles sont bidentées. Bord interne glabre. Palpe au premier article très court (égal au quart du second). Le deuxième article, festonné en son extrémité, porte une soie subdistale et quatre dents lancéolées seulement. Les autres espèces comptent cinq ou six dents lancéolées.

Maxilles II (fig. 3, A) : le lobe interne, le plus court, est garni de trois soies subdistales et quatre soies distales en plus des nombreuses et fines soies des bords interne et externe. Le lobe externe, très riche en soies ténues au bord externe, porte cinq très longues soies subdistales et six soies distales très longues également.

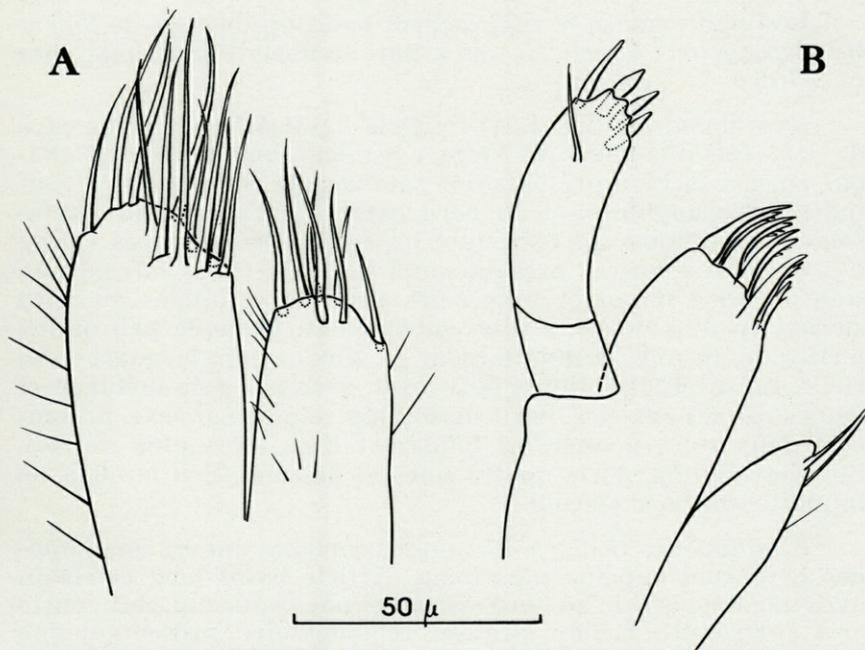


Fig. 3. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, maxille II; B, maxille I.

Maxillipèdes (fig. 2, C) : lobe interne ne dépassant pas la moitié du lobe externe, armé de trois dents lancéolées distales, cinq soies subdistales et une soie dans la région médiane. Le lobe

externe présente une rangée de soies latérales externes, quatre dents lancéolées, quatre fortes soies subdistales et quatre soies éparses. Palpe à quatre articles, le second étant le plus long. Le premier porte une soie médiane, le second deux soies subdistales, le troisième un groupe de trois soies bifides à leur extrémité, au bord interne, et un groupe de trois soies simples, plus longues, distales; dernier article le plus court, terminé par une forte griffe et orné de deux soies au bord interne.

La lèvre inférieure ne présente aucun caractère particulier.

MÉSOSOME

Les segments sont de plus en plus larges vers l'arrière. Plaques coxales 1 très petites, 2, 3 et 4 plus hautes que larges, 5 les plus larges, à bord inférieur à peine concave, 6 et 7 aussi hautes que larges et plus petites que les cinquièmes.

Les gnathopodes se rapprochent beaucoup de ceux de *Salentinella angelieri angelieri*, mis à part le dactyle plus long chez *S. petiti*.

Gnathopodes I (fig. 4, A) : article basal dilaté, un peu plus de deux fois plus long que large, avec deux longues soies à chaque bord. L'ischion présente une soie tergale. Méropodite à contours sublosangiques, et au bord externe garni de trois fortes soies, l'une bifide à son extrémité, les deux autres pennées. Carpe très court et robuste : presque aussi large que long, offrant une soie au bord tergal et trois soies pennées et bifides au bord sternal en plus de deux soies subapicales. Propode peu dilaté, piriforme, la plus grande largeur se situant vers le quart inférieur. Bord tergal oblique, puis droit, avec une soie médiane et deux soies subapicales. Bord sternal légèrement convexe, présentant deux soies pennées et bifides et trois soies plus courtes. Le dactyle, long, porte quatre soies et descend bien au-delà de la moitié du bord sternal.

Gnathopodes II (fig. 4, B) : moins robustes que les gnathopodes I, ils sont à peine plus longs. Article basal long et étroit, avec une longue soie au bord sternal et une beaucoup plus courte vers l'extrémité. Ischion presque rectangulaire, présentant une soie au bord sternal. Méropodite sublosangique, avec une soie sternale. Carpe allongé, plus de deux fois plus long que large; une courte soie subdistale implantée au bord tergal et deux groupes de deux fortes soies bifides au bord sternal. Propode allongé, à bord sternal fortement convexe jusqu'à sa région médiane,

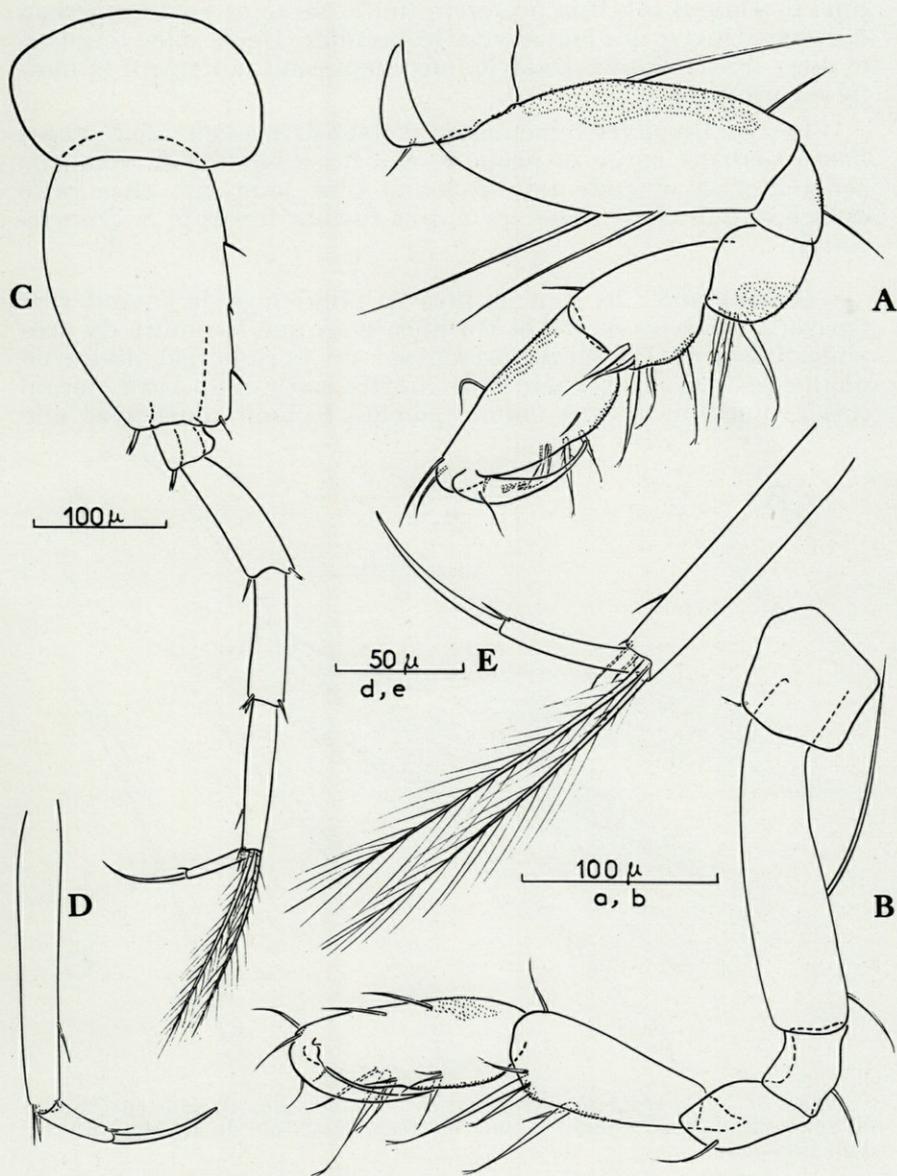


Fig. 4. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, gnathopode I; B, gnathopode II; C, péréiopode 5; D, propode et dactyle du péréiopode 4; E, propode et dactyle du péréiopode 5.

puis presque droit. Une première touffe de soies part au niveau du second tiers, une autre vers le premier. Deux soies tergaes, et deux soies à l'apex. Dactyle long, dépassant nettement la moitié du propode.

Les gnathopodes ressemblent d'assez près à ceux de *S. angelieri angelieri* (carpe et propode élancés à chétotaxie voisine); cependant, le dactyle est beaucoup plus long que chez cette espèce et que chez toutes les autres formes (excepté *S. franciscoi*).

Péréiopodes : ils sont de plus en plus longs de l'avant vers l'arrière. Dactyles de P 3 et P 4 plus longs que la moitié du propode. Basis de P 5 large, présentant un bord tergal divisé en quatre festons séparés par trois courtes soies et un bord sternal entier; une soie et une épine apicales. Ischion court avec une

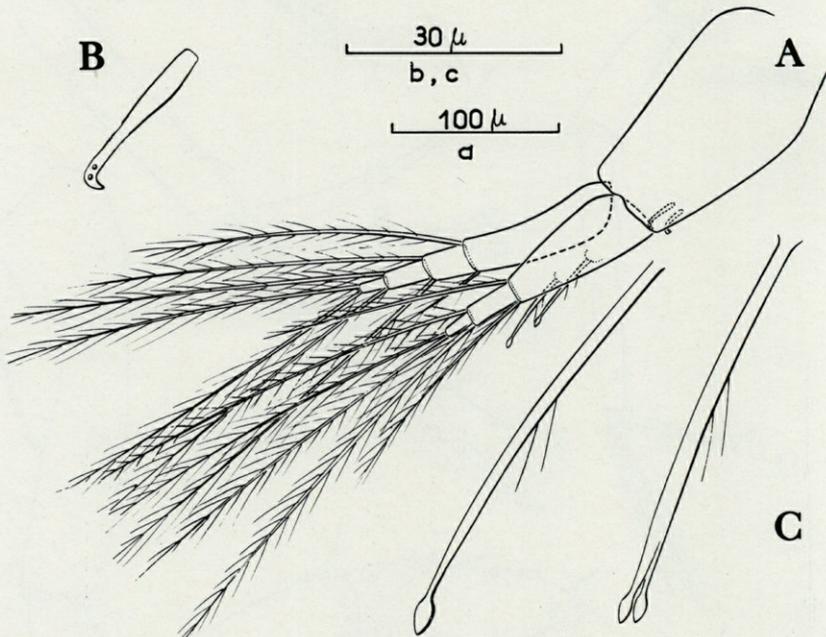


Fig. 5. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, pléopode; B, soie en crochet du sympode d'un pléopode; C, soie du premier article de la rame interne d'un pléopode.

épine sternale. Méropodite non dilaté comme celui de *S. delamarei*, mais allongé comme chez *S. franciscoi*, bilobé à l'apex, avec une épine tergale et une soie sternale. Carpe à bord parallèle-

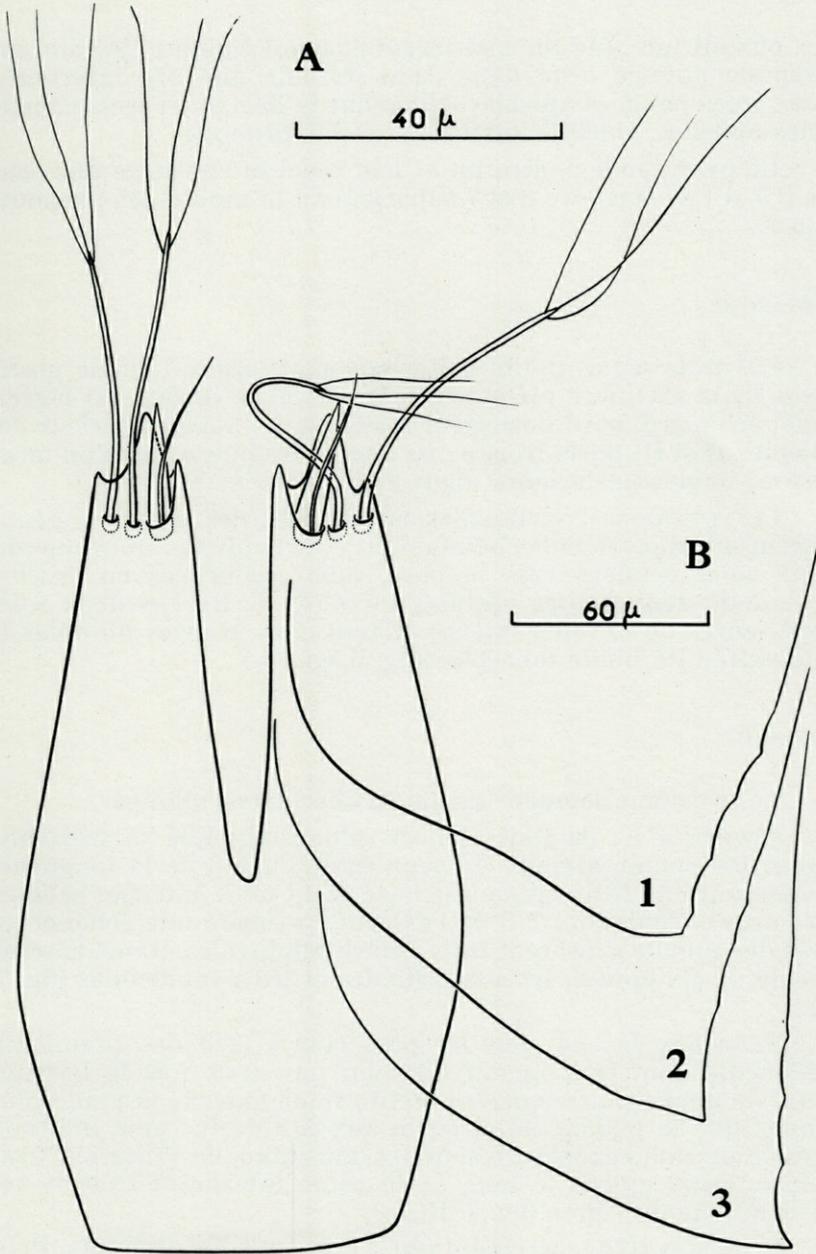


Fig. 6. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, telson; B, plaques épimérales I, II et III.

les, offrant une soie du côté tergal et une épine du côté sternal. Propode allongé orné d'une soie sternale aux 3/4 inférieurs; deux soies pennées apicales dépassant le dactyle et trois courtes soies apicales. Dactyle aussi long que le propode.

Le périopode 6 offre un article basal moins large que ceux de P 5 et P 7. Dactyles 6 et 7 supérieurs à la moitié des propodes 6 et 7.

MÉTASOME

Les trois segments du métasome sont larges. L'angle postérieur de la première plaque épimérale, voisin de 90°, est légèrement échancré; bord postérieur festonné. Le bord postérieur des plaques II et III porte trois petits denticules au-dessus d'un large feston; angles postérieurs aigus et légèrement relevés.

Les pléopodes, conformes au modèle des autres espèces, offrent quelques détails chétotaxiques particuliers : au sympode, deux soies renflées vers la base, puis recourbées en crochet hérissé de deux petites protubérances (fig. 5, B). Les deux soies supérieures de la rame interne offrent deux courtes pinnules et une extrémité bifide lancéolée (fig. 5, C).

UROSOME

Le troisième segment est particulièrement allongé.

Uropodes I : ils sont élancés, plus longs que la troisième paire. Pédoncule allongé (largeur égale au 1/3 de la longueur) présentant une forte épine à la base de la rame interne; celle-ci, très mince, égale aux 2/3 de l'externe, présente une échancrure près de laquelle s'insèrent trois épines subdistales. Rame externe garnie de six épines, trois marginales et trois subdistales (fig. 7, A).

Uropodes II : ce sont les plus courts (2/3 des premiers). Pédoncule dont la longueur n'atteint pas deux fois la largeur, muni de deux épines apicales. Petite rame externe (à peine plus longue que le pédoncule et égale aux 2/3 de la rame interne), présentant une encoche au sommet dans laquelle s'insèrent trois épines. Deux épines le long de la rame interne et trois issues de l'encoche de l'apex (fig. 7, B).

Uropodes III : légèrement plus courts que les premiers. Petit pédoncule arrondi, aussi large que haut, hérissé de quatre épines tout près du niveau d'insertion des branches externe et interne.

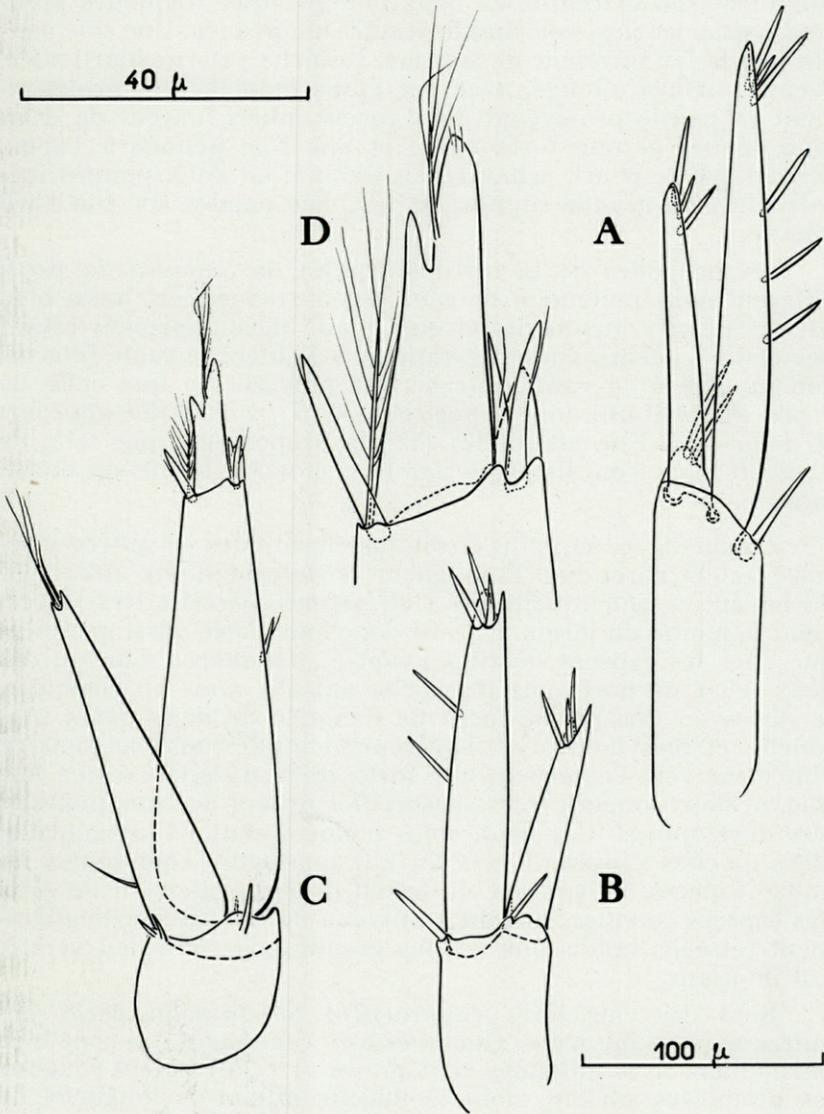


Fig. 7. — *Salentinella petiti* n. sp. : A, uropode I; B, uropode II; C, uropode III; D, détail du second article de la rame externe de l'uropode III.

Rame interne atteignant les $\frac{2}{3}$ de la rame externe. Une encoche divise son extrémité en deux pointes entre lesquelles prennent naissance une soie simple et une soie pennée. Une soie simple vers le $\frac{1}{6}$ inférieur de la rame. Branche externe biarticulée. Premier article allongé, avec une épine médiane, un prolongement en pointe protégeant deux fortes épines longées de deux soies ténues et une forte épine et une soie pennée à l'apex. Second article court, échancré au sommet en deux pointes inégales, la plus grande supportant une soie pennée sur son bord interne.

Les uropodes de la troisième paire de *Salentinella petiti* diffèrent donc nettement de ceux des autres espèces aussi bien par les détails chétotaxiques que par le développement relatif des deux branches l'une par rapport à l'autre; la rame interne, par rapport à la rame externe, est plus courte que celle de *S. gracillima* et plus longue que celles de *S. franciscoloi*, *angelieri* et *delamarei*. Elle atteint les mêmes proportions que celle de *S. gineti* mais s'en distingue par la chétotaxie beaucoup moins fournie.

Telson (fig. 6, A) : plus étroit que chez toutes les autres espèces. L'échancrure, dont la longueur est intermédiaire entre toutes les autres Salentinelles et *S. delamarei*, dépasse très légèrement la moitié du telson. Elle est donc loin d'être aussi profonde que chez les espèces décrites avant *S. delamarei*. Chacun des deux lobes ne porte pas d'encoche apicale, mais au contraire, se divise en une pointe médiane flanquée de deux dents plus courtes et dissymétriques. Légèrement au-dessous, naissent de l'intérieur vers l'extérieur, une forte épine parallèle à une fine soie, et deux longues soies sensorielles ornées de trois pinnules très développées. Ces deux soies pennées sont ici subapicales, alors qu'elles s'insèrent vers les $\frac{2}{3}$ supérieurs chez toutes les autres espèces. Le contour du telson diffère également de celui des espèces connues, surtout au niveau de la base, particulièrement rétrécie, tandis que la plus grande largeur a lieu vers le $\frac{1}{3}$ inférieur.

Bien des caractères rapprochent *Salentinella petiti* des autres espèces du genre. Quelques-uns, cependant, lui sont bien particuliers : ses antennes sont grêles et relativement longues, les premières surtout, dont le flagelle atteint la longueur du pédoncule; les mandibules présentent un palpe très élancé, au deuxième article étroit; la présence de quatre dents lancéolées au lieu de cinq ou six au palpe maxillaire est à noter; le dactyle des gnathopodes I et II dépasse nettement la moitié du propode, tandis que celui de P 5 atteint la longueur du propode; les deux

soies longues, lancéolées et bifides de la rame interne des trois paires de pléopodes sont tout à fait caractéristiques; les uropodes III, particulièrement élancés, avec leur rame interne relativement longue ($2/3$ de la rame externe) caractérisent bien l'espèce tant par leurs proportions que par leur chétotaxie. La morphologie du telson surtout distingue nettement *S. petiti* des espèces déjà connues et caractérise bien la nouvelle espèce: l'échancrure relativement peu profonde, ne dépasse que de peu la moitié de la longueur du telson; les lobes, au lieu d'être incisés à l'apex comme chez les autres Salentinelles, se terminent au contraire par une longue excroissance médiane, accompagnée de deux dents plus courtes, et les deux longues soies pennées, qui chez toutes les autres espèces s'insèrent vers les $2/3$ supérieurs, prennent naissance, chez *S. petiti*, au même niveau que l'épine subapicale, dès la base de la pointe médiane.

Remarquons à nouveau que la longueur de l'échancrure du telson n'est pas caractéristique du genre *Salentinella*, si non les espèces *delamarei* et *petiti* n'appartiendraient pas à ce genre. Mais, la morphologie du telson seule ne peut justifier la création d'un genre nouveau pour l'espèce ici décrite et pour *S. delamarei*; tous les autres détails morphologiques: petite taille, antennes courtes, flagelle accessoire de A I uniarticulé, cadre buccal, gnathopodes, uropodes III à branche interne plus courte que la branche externe biarticulée correspondant bien aux caractéristiques génériques.

Il s'agit donc de modifier légèrement et d'élargir la diagnose du genre donnée par RUFFO en 1947, puis précisée par lui en 1953, notamment en ce qui concerne les mandibules, les maxilles et le telson.

Les mandibules du genre *Salentinella* sont caractérisées par la présence de 4 ou 5 dents à la *pars incisiva*, 3 à 5 dents à la *lacinia mobilis*, par le processus molaire robuste muni d'une longue soie, et par le palpe triarticulé aux articles 1 et 3 égaux.

D'autre part, le palpe des maxilles I est garni de 4 à 6 épines distales.

Le telson, échancré plus ou moins profondément dans sa région médiane, présente deux lobes dont l'apex est creusé ou non d'une encoche.

Tous les autres détails de la diagnose du genre donnée par RUFFO en 1953 s'appliquent aux trois espèces *S. gineti*, *S. delamarei* et *S. petiti*, décrites depuis cette date.

En reprenant les termes de RUFFO, la diagnose du genre

Salentinella ainsi modifiée, peut s'énoncer de la manière suivante :

SALENTINELLA Ruffo 1947

Yeux absents. Antennes relativement courtes, les premières présentant un flagelle accessoire uniarticulé, squamiforme ou non. Lobes latéraux du prosome triangulaires, arrondis vers l'avant. Appendices buccaux : lèvre supérieure à bord antérieur concave dans la région médiane. Lèvre inférieure pourvue de lobes internes. Mandibules : *pars incisiva* munie de 4 ou 5 dents, *lacinia mobilis* comptant 3 à 5 dents, processus molaire robuste, muni d'une longue soie, palpe triarticulé, aux articles 1 et 3 égaux. Maxilles I à lobe interne court muni de deux soies distales, à lobe externe offrant 9 épines présentant 2 à 5 dents, palpe robuste, plus long que les lobes, muni de 4 à 6 épines distales. Maxilles II à lobe interne plus court et plus étroit que le lobe externe, et muni de soies distales; le lobe interne porte des soies distales et subdistales. Maxillipèdes : lobe externe muni de 3 ou 4 dents, et plus long que le lobe interne qui porte 2 à 4 dents. Gnathopodes I et II peu différents, la seconde paire plus élancée que la première. Uropodes III : rame interne uniarticulée plus courte que la rame externe biarticulée, second article de cette dernière court et subconique. Telson échancré plus ou moins profondément dans sa région médiane, apex des deux lobes muni ou non d'une encoche.

Les espèces se distinguent entre elles par la morphologie des gnathopodes (forme du propode et longueur du dactyle), la longueur du dactyle des péréiopodes 4 et 5, les proportions relatives des rames interne et externe des uropodes III et la forme du telson. On peut, d'après ces caractères, établir le tableau suivant des espèces.

TABLEAU DES ESPÈCES (1)

- | | |
|---|-------------------|
| 1(8) rame interne des uropodes II dépassant la moitié de la longueur de la rame externe | 2 |
| 2(5) telson échancré bien au-delà de sa moitié, sur les 4/5 de sa longueur, lobes du telson présentant une encoche apicale | 3 |
| 3(4) uropodes III courts, rame interne égale aux 3/4 de la longueur de la rame externe. Propode des gnathopodes II à bord palmaire nettement convexe et avec la largeur maximum vers la moitié. Dactyle de P 4 moins long que la moitié du propode (RUFFO in litt.) | <i>gracillima</i> |
| 4(3) uropodes III élancés; rame interne égale aux 2/3 de la longueur de la rame externe. Antennes I et II longues; flagelle accessoire des antennes I plus long que le premier article du pédoncule. Propodes des gnathopodes I et II à bord palmaire fortement convexe, avec la largeur maximum vers le 1/3 inférieure. Dactyle de P 7 égal à la moitié du propode | <i>gineti</i> |
| 5(2) telson faiblement échancré, jusque vers sa moitié ou moins ... | 6 |

(1) Ce tableau ne mentionne pas les deux sous-espèces *S. gracillima balcanica* Karaman et *S. angelieri pisana* Ruffo.

- 6(7) échancrure du telson dépassant à peine sa moitié; lobes du telson munis d'une pointe médiane. Rame interne des uropodes III égale aux 2/3 de la rame externe. Propode des gnathopodes I et II à bord palmaire peu convexe, dactyle dépassant la moitié du propode. Dactyle de P 5 égal au propode *petiti*
- 7(6) échancrure du telson inférieure au 1/3 de sa longueur; lobes du telson présentant une encoche apicale. Rame interne des uropodes III égale aux 2/3 de la rame externe. Flagelle accessoire des antennes I dépassant le premier article du pédoncule. Propodes des gnathopodes I à bord palmaire fortement convexe et avec la largeur maximum au niveau du 1/3 inférieur; dactyle plus court que la moitié du propode. Gnathopodes II à bord palmaire droit. Dactyle de P 4 et P 5 à peine plus long que la moitié du propode *delamarei*
- 8(1) rame interne des uropodes III égale à la moitié tout au plus de la rame externe. Dactyle de P 4 plus long que la moitié du propode 9
- 9(10) échancrure du telson égale aux 4/5 de sa longueur. Rame interne des uropodes III égale à la moitié de la rame externe. Propode des gnathopodes I et II à bord palmaire nettement convexe et avec la longueur maximum vers le 1/3 inférieur; dactyle plus long que la moitié du propode. Dactyle de P 5 aussi long que le propode *franciscocoli*
- 10(9) échancrure du telson égale aux 4/5 de sa longueur. Rame interne des uropodes III égale au 1/3 de la rame externe. Propodes des gnathopodes I et II à bord palmaire peu convexe; dactyle inférieur ou égal à la moitié du propode. Dactyle de P 5 moins long que le propode *angelieri*

La présence de *Salentinella petiti* dans le « Causse périgourdin », bordure nord-est du bassin aquitain, à plus de 180 km de l'Atlantique, n'est pas sans intérêt. L'aire de répartition des Salentinelles s'étend donc vers l'ouest et à une grande distance des rivages marins. *Salentinella* était connu jusqu'à maintenant, *S. gineti* mis à part, dans les eaux souterraines proches du littoral méditerranéen; ce fait permettait de considérer les salentinelles comme appartenant au contingent des animaux venus coloniser les eaux souterraines continentales en partant des eaux souterraines littorales. *S. gineti*, étroitement localisé dans une grotte des Pyrénées ariégeoises, semble s'opposer à ce point de vue. Il s'agit peut-être d'une espèce isolée jadis dans les eaux souterraines des Pyrénées. La découverte en Dordogne de *S. petiti* permet de supposer que le genre est plus répandu qu'on ne le croit généralement dans les eaux phréatiques continentales. Aucune Salentinielle n'a été recueillie jusqu'à ce jour au sein des eaux souterraines littorales du Golfe de Gascogne et du rivage atlantique.

BIBLIOGRAPHIE

- BALAZUC, J., 1957. — Notes sur les Amphipodes souterrains. I. Un nouveau Gammaride troglobie de l'Ariège, *Salentinella gineti* n. sp. *Notes biospéologiques*, 12 (2) : 67-74.
- BASCHIERI-SALVADORI, F., 1952. — *Salentinella denticulata* n. sp., Anfipode Gammaride di acque cavernicole del Monte Argentario. *Boll. di Zool. Napoli*, 19 (1-3) : 3-7.
- COINEAU, N., 1962. — *Salentinella delamarei*, nouvel Amphipode Gammaridae des eaux phréatiques du Tech (Pyrénées-Orientales). *Vie et Milieu*, 13 (3) : 507-520.
- DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl. et RUFFO, S., 1954. — Une nouvelle *Salentinella* Ruffo (Amphipode Gammaridae) des eaux phréatiques de Corse. In CHAPPUIS, P.-A. et DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl. : Recherches sur les Crustacés souterrains, *Biospeologia*, 74. *Arch. Zool. exp. gén.*, 91 (1) : 139-143.
- DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl., 1960. — Biologie des eaux souterraines littorales et continentales. Suppl. à *Vie et Milieu*, 9, 740 pp., 254 figs.
- GINET, R., 1957. — Capture d'une espèce nouvelle de *Salentinella* (Amphipoda Gammaridae) dans une grotte des Pyrénées ariégeoises. *C.R. Acad. Sc.*, 241 : 1173-1175.
- KARAMAN, S., 1953. — Ueber subterrane Amphipoden und Isopoden des Karste von Dubrovnik und seines Hinterlandes. *Acta Mus. Maced. Sci. Nat.*, Skopje, 1 (7) : 137-167, 47 figs.
- MOTAS, C., 1962. — Procédé des sondages phréatiques — division du domaine souterrain — classification écologique des animaux souterrains — le psammon. *Acta Mus. Maced. Sci. Nat.*, Skopje, 8 (7) : 135-173.
- RUFFO, S., 1953. — Studi sui Crostacei anfipodi. XXXV. Nuove osservazioni sul genere *Salentinella* Ruffo (Amphipoda-Gammaridae). *Boll. Soc. Ent. Ital.*, 83 (5-6) : 56-66, 6 figs.
- RUFFO, S. et DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl., 1952. — Deux nouveaux Amphipodes souterrains de France : *Salentinella angelieri* n. sp. et *Bogidiella chappuisi* n. sp. *C.R. Acad. Sc.*, 224 : 1636-1638, 9 figs.
- RUFFO, S., 1960. — Studi sui Crostacei Anfipodi. LV. Contributo alla conoscenza dei Crostacei Anfipodi delle acque sotterranee della Sardegna e delle Baleari. *Atti, Ist. Veneto Sci., Lett. ed Arti, Venezia*, 118 : 169-180.
- STELLA, E. et BASCHIERI-SALVADORI, F., 1953. — La faune acquatica della grotta « di Punta degli Stretti » (Monte Argentario). *Arch. Zool. Ital.*, 38 : 441-483, 2 pls.

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DE L'EURYHALINITÉ ADAPTATIVE
CHEZ LE CYPRINODONTE *POECILIIDAE*
***LEBISTES RETICULATUS* PETERS**

par T. MOHSEN et M. ÉMÉRIT

Les poissons sont actuellement classés en plusieurs catégories selon le milieu naturel dans lequel ils vivent et selon leur tolérance vis-à-vis des variations de concentrations ambiantes en sels minéraux.

a) Les poissons d'eau douce stricts sont ceux qui exigent pour vivre une salinité fixe et ne tolèrent qu'une variabilité très limitée de la teneur en sel de leur milieu (*Carassius auratus*, *Phoxinus phoxinus* et *Salmo trutta*).

b) Les poissons d'eau de mer stricts vivent dans l'eau de mer et ne supportent qu'une faible dilution de ce milieu (*Gobius cobitus*, *Mugil auratus*).

Ils sont souvent appelés *sténohalins*. Le terme *sténohalin* qui signifie normalement possibilité de vivre dans un milieu dont la teneur en sels ne varie qu'entre des limites étroites, n'est pourtant utilisé par la plupart des auteurs, que quand il s'agit de poissons marins.

Les poissons euryhalins sont par contre des poissons qui tolèrent une grande variation de salinité du milieu dans lequel ils vivent, à condition toutefois que le changement ne soit pas trop brusque. Certains euryhalins proviennent de l'eau douce

(*Gasterosteus aculeatus*), d'autres ont l'eau de mer comme milieu d'origine (*Fundulus heteroclitus*).

D'après GUNTER (1942), les poissons s'adaptent plus facilement à un milieu hypotonique qu'à un milieu hypertonique, ce qui explique qu'en Amérique du Nord, on trouve neuf poissons d'eau de mer dans l'eau douce contre un poisson d'eau douce dans la mer.

Certains poissons présentent une euryhalité saisonnière et émigrent à un moment donné d'un milieu à l'autre (amphibiotiques). Ceux-ci sont divisés en deux catégories :

— Catadromes : ceux qui se développent en eau douce, puis émigrent en eau de mer pour se reproduire (Anguilles).

— Anadromes : ceux qui se développent en eau de mer et émigrent en eau douce au moment de la reproduction (Saumons).

Les adaptations des poissons dulcaquicoles à l'eau de mer pure ou diluée, et des poissons marins à l'eau douce ou saumâtre, ont fait l'objet de nombreuses études, et nous citons ici un certain nombre de celles-ci à titre d'exemples.

BERT (1871) a transféré des Epinoches et des Anguilles pris dans l'eau douce, directement dans l'eau de mer. Il a obtenu dans certains cas, une survie de plus d'un mois, dans d'autres cas, une survie de deux heures à un jour (1).

D'autre part le même auteur a essayé d'accoutumer graduellement des poissons d'eau douce à l'eau de mer, en ajoutant une petite quantité de ce dernier milieu à l'eau douce de l'aquarium. Il est arrivé à la conclusion que les poissons supportent mieux les variations progressives que les variations brusques, mais il n'a pu dépasser la proportion de moitié eau douce, moitié eau de mer.

GARREY (1915) a étudié la résistance d'un poisson d'eau douce stricte à l'eau de mer (*Notropis blennius* = *N. stramineus*), par transfert direct. En eau de mer pure la survie est de vingt minutes; en eau de mer à 30 % la survie est de six semaines et en eau de mer plus diluée, la survie est durable.

En 1925, DUVAL a pu adapter la Carpe, *Cyprinus carpio*, à une solution salée (correspondant à environ la moitié de la concentration de l'eau de mer), en ajoutant une ou deux fois par jour, et pendant 50 jours, du sel marin à l'eau de l'aquarium.

(1) Ceci peut être dû à l'euryhalinité saisonnière de ces poissons; les individus étudiés étaient très probablement hétérogènes du point de vue activité andocrinienne.

D'autre part il a étudié les variations de Δ par rapport à celles du milieu extérieur.

Gilles LA ROCHE (1952) ayant étudié chez les Saumoneaux la résistance à une solution sursalée, Cl = 26 g/litre, constate que la mortalité commence au bout de six heures et qu'au bout de 24 heures tous les animaux sont morts.

Les études de RENFRO (1959) portent sur la durée de survie d'un certain nombre de poissons d'eau douce ou mixohalins (*Notropis lutrensis*, *Pimephales vigilax*, *Gambusia affinis*, etc.), à une variation progressive de salinité. Le nombre d'individus utilisé pour chaque expérience étant très limité, nous pensons que ces conclusions ne peuvent être considérées comme valables.

En 1961, HOLLIDAY a réussi à élever des Harengs jeunes et adultes, aussi bien dans de l'eau de mer diluée à 6 ‰, que dans une solution sursalée de 40 à 45 ‰.

En 1952, RAFFY a étudié l'influence des variations de la température sur l'osmorégulation chez les Carpes. Son étude se borne à deux températures (17° et 26° C). Elle conclut que l'élévation de température amoindrit la résistance des poissons à l'accroissement de salinité du milieu.

CORDIER D. et MAURICE A. (1957) sont arrivés aux mêmes résultats chez la Tanche (*Tinca vulgaris*). Ces auteurs se sont également bornés à l'étude de l'action de deux températures (15° et 10° C). Chez la Tanche également, JULIEN et al. (1959) ont obtenu les mêmes résultats. Mais ces derniers attribuent, du moins en partie, cette diminution de résistance à des facteurs saisonniers (activité saisonnière de la glande thyroïde).

Nous pensons qu'en dehors de l'activité endocrinienne, et quand il s'agit d'un poisson qui ne présente pas de variations, comme c'est le cas chez le *Lebistes reticulatus*, il existe une température optimum pour laquelle la résistance à l'accroissement de salinité du milieu atteint son maximum. Cette température optimum n'est pas forcément la plus basse. Nous verrons plus loin dans cette note qu'elle se situe (en variant évidemment selon les espèces), aux environs de la température optimum de l'animal dans son milieu naturel.

L'action des solutions simples (chlorure de sodium, chlorure de potassium et bicarbonate de sodium) a été envisagée par RINGER (1884) sur les Epinoches et sur les Vairons.

En 1915, GARREY a trouvé chez *Notropis blennioides*, que ceux-ci vivent plus longtemps en eau de mer diluée qu'en solution de chlorure de sodium ayant la même concentration de ce sel que l'eau de mer diluée. L'effet toxique de certains sels minéraux

peut être atténué en les associant à d'autres sels dans le milieu du poisson.

Des résultats semblables ont été obtenus par SIEDLECKI (1903) chez les Epinoches.

Récemment, JULIEN et al. (1959), ont étudié chez un certain nombre de poissons d'eau douce (*Tinca vulgaris*, *Leuciscus rutilus* et *Ameriurus nebulosus*), l'action des solutions salines simples et équilibrées; ils ont remarqué que la Tanche supporte mieux l'accroissement de salinité en hiver qu'en été, que l'immersion de ce poisson dans des solutions hypertoniques de Cl Na s'accompagne d'une augmentation de la teneur du sang en ions Na⁺, K⁺ et Ca⁺⁺.

En 1884, RINGER a apporté des résultats sur l'effet léthal de l'eau distillée pure ou mélangée à l'eau du robinet, chez les Epinoches, les Vairons et les Anguilles. Il conclut que la mort est due à l'absence en eau distillée de certains sels minéraux.

Par contre, GARREY (1915) a pu élever des *Notropis blennius* pendant des semaines en eau distillée.

LOEB (1913), de son côté, a pu faire vivre des *Funaulus heteroclitus* en eau distillée.

La mort des poissons par suite du transfert de ceux-ci dans un milieu de salinité différente de leur milieu naturel, a toujours intrigué les biologistes.

BERT (1871) attribue cette mort aux phénomènes osmotiques qui modifient profondément l'épithélium branchial, entraînant l'asphyxie.

REGNAUD (1891) et DUVAL (1925) sont du même avis.

Par contre PORA et ACRIVO (1939) ne constatent histologiquement aucune altération structurale au niveau des branchies; ils attribuent la mort à un phénomène d'asphyxie dû à une saturation insuffisante en oxygène de l'hémoglobine du sang, consécutif à une modification du pH du sang.

JULIEN et al. (1959) pensent que les causes varient d'un poisson à l'autre. L'asphyxie est un facteur plus ou moins important (selon les espèces), auquel s'ajoutent d'autres facteurs: perte en eau, augmentation de la teneur en sels des tissus, qui entraîne une modification des réserves alcalines, du pH et des taux protéiniques.

II. CONSTATATION SUR LE TERRAIN

Dans un canal d'évacuation des eaux usées du faubourg nord de Dakar (Hann) aboutissant à la mer, d'une longueur totale de 60 mètres environ, nous avons constaté l'existence de populations très nombreuses du Cyprinodonte *Lebistes reticulatus*. Ces poissons ont été introduits au Sénégal vers 1933, par le Dr M. MATHIS, dans un but de lutte antipaludique. La souche est issue du laboratoire de M. le Professeur ROUBAUD, de l'Institut Pasteur de Paris. Les *Lebistes* ont joué le même rôle que les *Gambusia* en Afrique du Nord et à Madagascar. Ils ont proliféré abondamment dans ce canal qui sert d'ailleurs de réserve d'implantation pour le service d'hygiène de Dakar.

Le niveau des eaux de la partie basse du canal est sous la dépendance de la marée. Or, bien que beaucoup moins abondants que près de la source, les *Lebistes* existent très en aval, dans des eaux dont la salinité est assez élevée. On en trouve déjà à 10 mètres de l'embouchure, là où la teneur en eau de mer est de 75 %.

Nous avons partagé le bord cimenté du canal en tranches de 20 m constituant des points de prélèvement fixes. L'eau, dont la profondeur ne dépasse d'ailleurs pas 50 cm en saison sèche dans les conditions les meilleurs, a été prélevée en surface et la température notée. Trois courbes ont été faites d'après les 14 premières stations à partir de l'embouchure :

- a) conductivité globale au conductimètre Phillips,
- b) chlorinité mesurée par conductimétrie sur précipité au nitrate d'argent,
- c) température.

En ce qui concerne la deuxième courbe, nous constatons que dans les conditions d'observation, nous avons une chlorinité assez élevée sur 180 m qui chute suivant un gradient brutal pour atteindre un niveau très bas aux environs de 260 m (eau presque douce); ce gradient se déplace le long du canal avec les fluctuations de la marée, ce que nous avons constaté. Notons que des obstacles (vase, décombres, etc.) peuvent provoquer des stagnations locales entraînant quelques anomalies dans la position des points. Ce talus de chlorinité ne constitue pas, comme on pourrait s'y attendre, une limite infranchissable aux *Lebistes*, que l'on trouve de part et d'autre, ce qui précise notre observation précédente.

Par contre, ces poissons, ayant un fort phototropisme négatif (comme nous l'avons vérifié en élevage), s'abritent sous des objets flottants, ou dans les ombres.

Notons en outre (fig. 1) :

1) une corrélation entre la courbe de chlorinité au nitrate d'argent et celle de conductimétrie globale. Cette dernière étant beaucoup plus facile à établir, nous nous en contenterons dans toutes les mesures ultérieures de salinité.

2) une corrélation entre la courbe de chlorinité et celle de température, ce qui est normal, puisque l'eau de mer plus chaude est diluée par l'eau douce fraîche. Ces deux facteurs, liés dans la nature, seront dissociés au laboratoire.

Ces données nous ont amenés à vérifier expérimentalement quelles sont les tolérances des *Lebistes reticulatus* envers des milieux de salinité élevée, car ces animaux ont toujours été considérés comme des poissons d'eau douce exclusivement.

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour toutes les expériences qui vont suivre, nous avons utilisé des bacs en verre moulé de quatre litres, et de l'eau de mer de Dakar, qui contient 19,6 g de Cl/l. Le cas échéant, le taux de dilution est déterminé par conductimétrie directe (comparaison avec des abaques établis aux diverses températures à partir de milieux de dilutions connues).

Le transfert des *Lebistes* dans des milieux de concentrations salines croissantes s'est fait de deux façons :

a) par paliers arbitraires en repiquant les poissons dans des milieux de plus en plus concentrés.

b) par passage graduel à l'aide d'un appareil (fig. 2) qui consiste en un réservoir d'eau de mer surélevé dans lequel plonge un siphon dont l'extrémité inférieure aboutit au bac d'expérience où se trouvent les poissons. Dans ce dernier, au fur et à mesure du siphonage, le niveau est maintenu constant à l'aide d'un trop-plein. L'augmentation de salinité est contrôlée par conductimétrie; une aération est établie à l'aide d'une pompe belbul. Le débit du siphon est déterminé pour chaque expérience par la dénivellation avec le réservoir supérieur et par le calibre de la buse. Celle-ci est placée juste au-dessus de la pierre poreuse du belbul de manière à assurer un mélange instantané des deux eaux. On obtient par ce procédé une augmentation régulière de salinité jusqu'à 80 %, concentration au-delà de laquelle la courbe tend vers une asymptote horizontale. Il faut donc terminer le transfert par deux ou trois petits paliers, sans arrêter le fonctionnement du siphon. L'expérience prouve

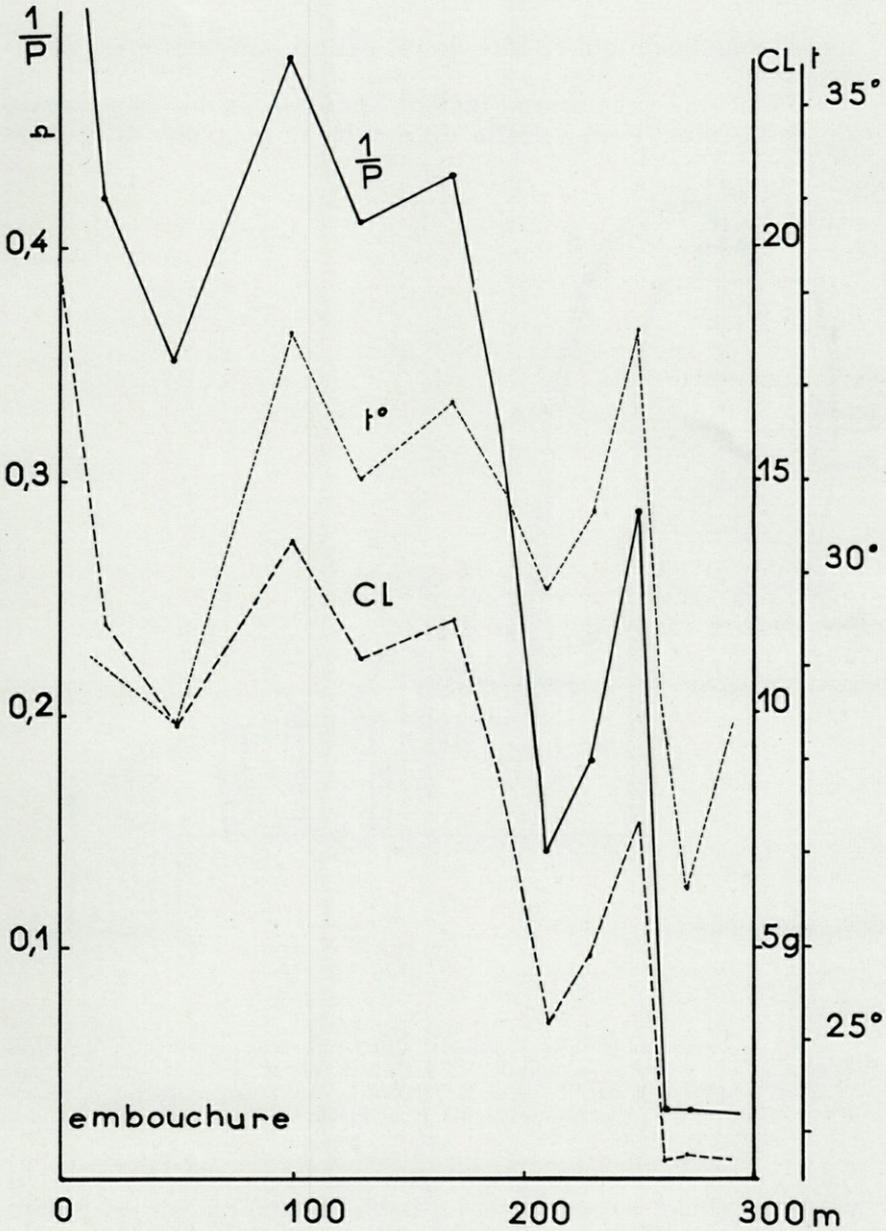


Fig. 1. — Canal d'évacuation des eaux usées, Hann, marée mi-basse. Trait plein : conductivité globale de l'eau (en ohms); trait à tirets : chlorimétrie (en grammes d'équivalent chlore par litre); pointillés : température de l'eau.

que l'irrégularité qui résulte de cet artifice opératoire est négligeable.

Pour étudier le comportement des poissons mis en présence de deux milieux de salinité différente, nous avons utilisé des

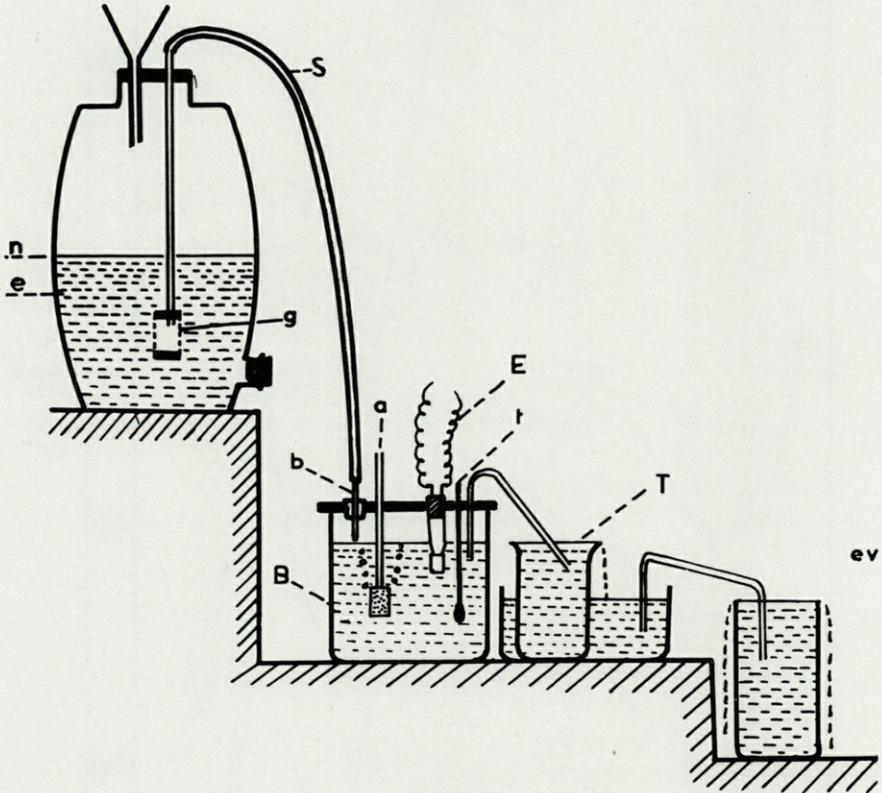


Fig. 2. — Schéma d'un dispositif qui permet de créer une variation graduelle de salinité. *a*, bulbul; *b*, buse; B, bocal dans lequel se trouvent les poissons; *e*, eau de mer; E, électrode; *ev*, évier; *g*, filtre; *n*, réservoir; S, siphon; *t*, thermomètre; T, trop plein.

bacs à double compartiment, pouvant communiquer par un pont superficiel d'eau douce. Le *Lebistes* peut choisir un milieu en passant sur le pont. Le dispositif de BAGGERMANN est conçu sur ce principe et utilise des lots de dix animaux par double bac. A des moments arbitraires, on pointe les poissons nageant dans les compartiments d'eau douce et d'eau de mer et on établit

une courbe de fréquence. Nous avons utilisé ce dispositif, mais nous avons dû le rejeter pour trois raisons :

a) par suite de l'effet de groupe particulièrement intense chez les *Lebistes*, qui fausse les pointages (un poisson pouvant être suivi par tous les autres dans un laps de temps très court).

b) à cause du choix arbitraire des temps de mesure.

c) à cause des erreurs causées par le pont; des poissons restant au-dessus de l'eau de mer dans le pont (d'eau douce) étant considérés comme dans l'eau de mer.

Pour éviter l'effet de groupe nous avons travaillé par la suite sur un seul poisson à la fois, situé dans un petit bac : dimensions de chaque compartiment : $5,5 \times 6 \times 13,5$ cm.

Pour éviter le choix arbitraire des temps de mesure, nous avons pointé en continu tous les passages d'un bac à l'autre à l'aide d'un manipulateur frottant sur un cylindre enregistreur. Dans le cas de l'alternative eau douce - eau de mer, trois notations différentes ont été utilisées, selon que le poisson passe de l'eau douce dans le pont, du pont dans l'eau de mer et de l'eau de mer dans le pont. Dans les calculs, nous avons considéré les séjours dans le pont comme faisant partie de l'eau douce.

Toute cause de dérangement du poisson doit être évitée. C'est pour cette raison que nous avons placé des bacs dans une enceinte en bois munie d'une lampe assurant un éclairage doux, homogène et indirect, l'observateur voyant le dessus du bac à l'aide d'un miroir à 45°.

Les bacs en bois paraffiné sont supérieurs à ceux en plexi-glas; dans ces derniers le poisson s'affole par suite des réflexions de son image sur les parois.

L'animal est laissé au repos pendant 1/4 d'heure après son introduction, puis un pont de 1 cm est établi par siphonage et l'expérience commence.

IV. RÉSULTATS

1) *L'adaptation à l'eau de mer*

Pour étudier la résistance des *Lebistes* à l'eau de mer, nous avons transféré des lots de 30 animaux aussi homogènes que possible, d'emblée dans des milieux de salinité donnée (25, 50,

75, 80, 90, 95 et 100 % d'eau de mer). L'histogramme (fig. 3) nous montre que la mortalité des poissons n'est à 100 % qu'à partir d'une concentration de 85 % en eau de mer; au bout de 24 heures, en dessous de cette concentration, il y a survie sélective, la totalité des animaux mourant au bout d'un temps compris entre 24 heures et une semaine.

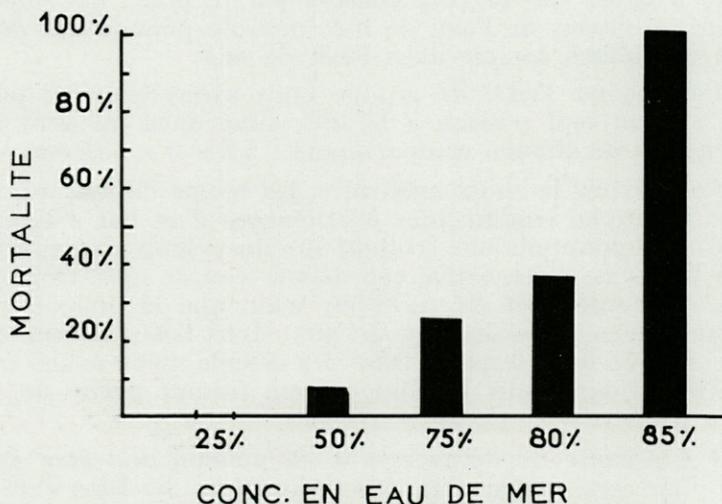


Fig. 3. — Histogramme de mortalité chez des *Lebistes reticulatus* transférés directement en eau de mer.

A la suite de l'expérience précédente, nous avons voulu voir si des poissons ayant déjà séjourné dans des milieux de l'ordre de 50 à 80 % d'eau de mer, pouvaient être repiqués en eau de mer pure sans y mourir. Nous n'avons constaté aucune mortalité au bout de cinq mois.

En utilisant plusieurs paliers (trois) au lieu d'un seul, avec séjour d'une semaine dans chaque milieu (ramené par la suite à 24 heures sans inconvénient) nous avons obtenu une survie des poissons à 100 %. L'absence totale de mortalité prouve qu'il s'agit d'une adaptation et non d'une sélection.

Le nombre des paliers et le choix des concentrations sont évidemment arbitraires. A l'aide de l'appareil décrit plus haut, nous avons pu créer une variation continue de salinité nous permettant de déterminer quel est le temps minimum nécessaire pour le transfert. Après quelques essais, deux temps de passage ont été choisis, 28 heures et 36 heures pour des lots de 50 pois-

sons (30 femelles et 20 mâles). Pour le lot de 28 heures, la mortalité était de 100 %, pour celui de 36 heures elle était pratiquement nulle (deux mâles et une femelle), ce qui donne une idée du temps minimum de transfert.

Il est à noter que le temps de survie des adultes adaptés est illimité, des souches de mer sont conservées dans notre laboratoire depuis plus de cinq mois sans mortalité. Nous ne sommes pas en mesure de savoir actuellement si le cycle peut être complet en eau de mer, autrement dit, si la reproduction est possible avec viabilité de la progéniture (1).

2) *Perte d'adaptation*

Ayant constaté l'existence d'un temps minimum nécessaire à la montée en eau de mer, nous avons vérifié s'il en était de même pour la redescente en eau douce d'un poisson adapté. Nous avons transféré brusquement un certain nombre d'animaux vivant depuis trois semaines en eau de mer, dans de l'eau douce, sans constater aucune mortalité. Le retour peut donc se faire d'emblée, quelque soit d'ailleurs le temps de séjour du poisson en eau de mer.

Une fois ce retour effectué, nous avons remis les mêmes individus directement en eau de mer au bout d'une semaine. Tous les animaux sont morts sans exception, ce qui prouve que l'adaptation qui leur a été antérieurement conférée ne s'est pas conservée; elle persiste si le temps de séjour en eau douce est inférieur à 36 heures, comme le montre le tableau suivant, tiré des résultats qui ont porté sur quatre lots de 25 individus.

<i>Temps de séjour en eau de mer</i>	<i>Nombre de morts</i>
24 heures	nul
36 heures	4 individus
46 heures	8 individus
72 heures	20 individus

3) *Résistance de *Lebistes reticulatus* à l'eau distillée*

Un lot de dix poissons adaptés à l'eau de mer est mis directement dans de l'eau distillée. Après un temps de malaise d'environ une à deux heures, les poissons y vivent normalement depuis bientôt trois mois. L'eau a été renouvelée fréquemment,

(1) L'un de nous a pu réaliser expérimentalement, chez cette espèce, un cycle complet en eau de mer, sans que les animaux perdent leur capacité de se reproduire (T. MOHSEN, 1962, *C. R. Soc. Biol.*, 156 (4) : 727-729).

notamment après chaque repas. Ceci montre que les possibilités d'adaptation de ce poisson sont remarquables.

4) Facteurs internes agissant sur l'adaptation

Age et sexe (fig. 4) : au cours de nos expériences, il s'est avéré que les jeunes mouraient en premier, et que les mâles mouraient plus vite que les femelles.

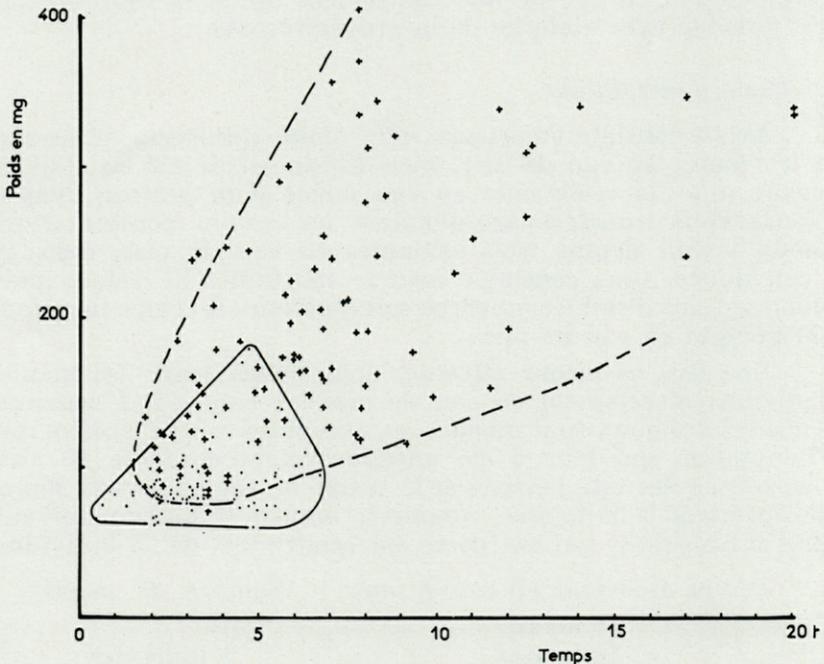


Fig. 4. — Nuages de mortalité chez *Lebistes reticulatus* (transférés directement en eau de mer) en fonction du sexe et du poids du corps. Les points représentent des mâles et les croix représentent des femelles.

Cent mâles et cent femelles (ces derniers comprenant un certain nombre de jeunes, qu'il est difficile de distinguer des femelles) sont mis en eau de mer suffisamment aérée et les morts sont pointés au fur et à mesure et pesés après essorage à la balance Mettler. On pointe pour chaque poisson, en abscisse, le moment de la mort, et en ordonnée le poids. Les points qui en résultent sont séparables en deux nuages distincts correspondant au gros des mâles et des femelles. Au bout de 11 h 1/2 tous les mâles sont morts alors que 55 % des femelles survivent.

Il est difficile de séparer le facteur sexe du facteur poids, puisque les femelles les plus légères sont généralement plus lourdes que les mâles les plus gros.

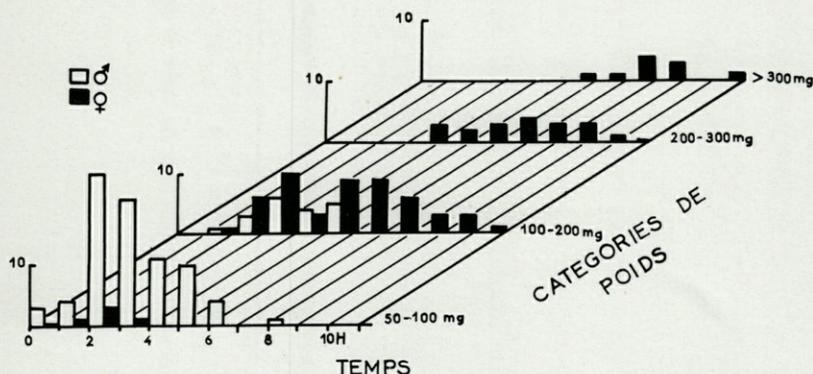


Fig. 5. — Histogramme de mortalité chez les mâles et les femelles par catégorie de poids.

Si on groupe les poissons en quatre catégories (fig. 5), selon leur poids (50 à 100 mg, 100 à 200 mg et plus de 300 mg) et que l'on établisse des histogrammes du nombre de morts en fonction du temps, on constate que l'ensemble des mâles se groupe dans la première catégorie suivant une courbe de Gauss qui s'étale sur sept heures, ceci avec une variabilité de poids minimale de 15 mg, ce qui est négligeable.

5) Facteurs externes agissant sur l'adaptation

a) la température (fig. 6) dans cette expérience, des mâles ont été choisis uniquement pour éviter de faire intervenir les facteurs sexe et variabilité en poids.

Trois lots de 50 mâles sont mis directement dans trois bacs d'eau de mer abondamment aérés, après avoir séjourné 14 h en eau douce à l'une des températures choisies, ceci pour éviter un effet de choc. Celles-ci sont de 23° C (enceinte climatisée), 28° C (ambiance) et 32° C (étuve).

La mortalité est précoce et rapide à 32°, moins précoce et plus étalée à 23° et le maximum de survie a lieu à 28°, température qui constitue un optimum dans le cadre de nos expériences. Des témoins montrent qu'aucune de ces trois températures n'est létale à longue échéance pour cette espèce (en eau douce).

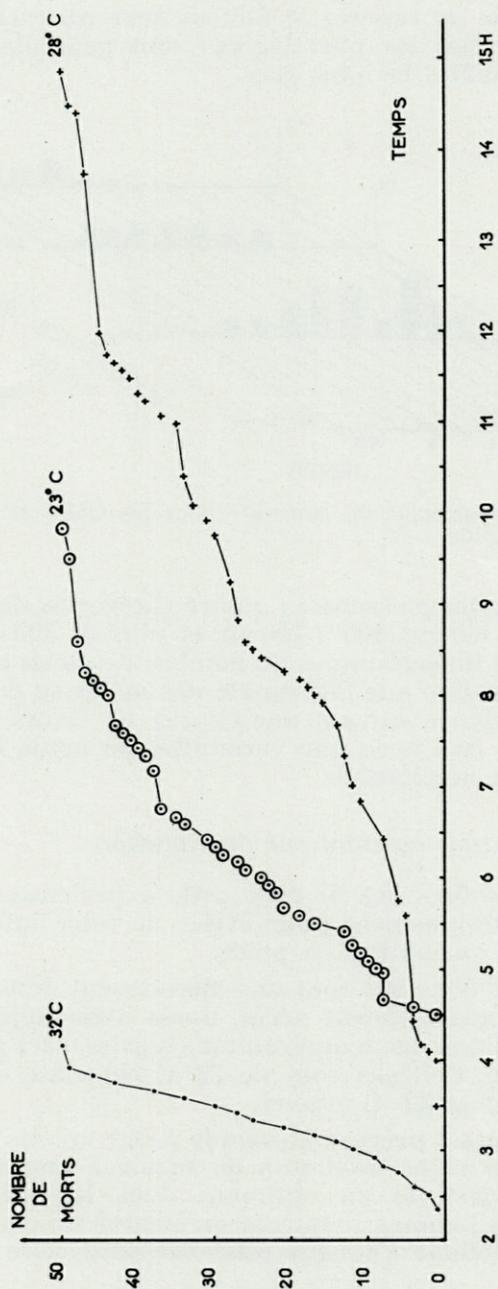


Fig. 6. — Courbes cumulatives de mortalité des animaux transférés dans de l'eau de mer à des températures différentes.

b) *Aération* (fig. 7) : deux lots de 50 mâles sont placés directement en eau de mer contenue dans deux bacs, l'un aéré 1/4 d'heure avant et durant l'expérience, l'autre non aéré. Un

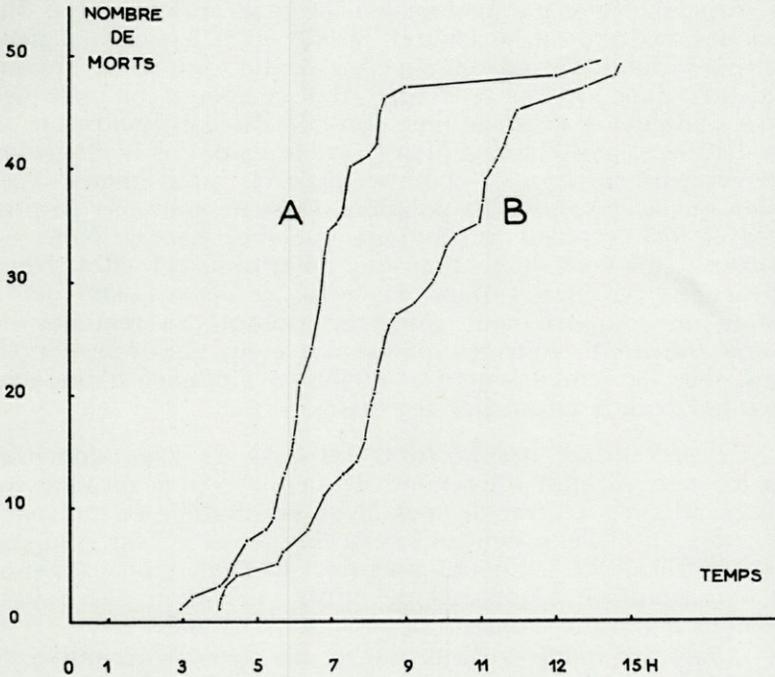


Fig. 7. — Courbes cumulatives de mortalité chez *Lebistes reticulatus*. A, lot d'animaux transférés dans de l'eau de mer aérée; B, lot d'animaux transférés dans de l'eau de mer non aérée.

troisième lot de 50 mâles (témoins) est en eau douce non aérée depuis 48 heures. Tous les bacs sont à la température ambiante de $28^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C. Les poissons meurent plus vite en eau non aérée; pendant ce temps, par contre, les témoins équivalents d'eau douce non aérée restent en survie durable, bien que l'oxygénation soit inférieure à celle du bac d'eau de mer non aérée, au moment de la mort du dernier poisson. Les taux d'oxygène dissous mesurés par la méthode de Winckler, au début et à la fin de l'expérience ont varié de 5,2 à 1,5 cm³ d'oxygène par litre pour l'eau aérée. Chez les témoins en eau douce non aérée, le taux d'oxygène est de 1,4 cm³ par litre (c'est-à-dire inférieur à celui de l'eau de mer non aérée).

6) Comportement en eau de mer

a) *Les effets de changements brutaux de salinité du milieu* (fig. 8) : lors du transfert direct, les *Lebistes* prennent une attitude caractéristique par inclinaison de l'axe de leur corps. En eau douce, cet axe est horizontal, la tête étant légèrement penchée vers le haut. Le poisson s'incline de 45° vers le bas quand on le met dans de l'eau de mer. Par contre, si on met des *Lebistes* adaptés à l'eau de mer dans de l'eau ordinaire ou de l'eau distillée, l'axe s'incline plutôt vers le haut. Ces inclinaisons n'ont évidemment rien de commun avec les mouvements d'ascension ou de descente des poissons. Elles ne sont pas permanentes et disparaissent au bout de quelques heures. Nous ne savons pas quel est le facteur qui détermine cet effet. Nous rapprochons ces observations de celles de JASKI (1939) qui a constaté un comportement voisin en isolant des femelles de *Lebistes reticulatus* loin des mâles; il a établi un cycle d'inclinaison chez les femelles qu'il a attribué à l'absence d'une substance hormonale émise par les mâles.

b) *Préférendum des poissons vis-à-vis de l'eau douce et l'eau de mer* : il était intéressant de savoir ce que feraient les *Lebistes* adaptés à l'eau de mer si on les mettait en présence d'un choix entre l'eau douce et l'eau de mer et si leur comportement différait de celui des poissons de l'eau douce (c'est-à-dire non adaptés). L'appareil de notre conception décrit plus haut nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

— pour les *Lebistes* d'eau douce mis dans l'alternative de passer en deux bacs d'eau douce, le rapport moyen des séjours dans les deux bacs (droit et gauche) est de 1,2 pour un total de sept expériences d'une heure chacune, ce qui vérifie la symétrie du dispositif du point de vue facteurs externes;

— pour les *Lebistes* d'eau douce mis en présence du choix entre l'eau douce et l'eau de mer, le rapport moyen des séjours dans l'eau douce + le pont/eau de mer est de 14,1 pour 17 expériences d'une heure;

— pour des *Lebistes* adaptés à l'eau de mer depuis au moins trois semaines, mis dans l'alternative de l'expérience précédente, ce même rapport n'est que de 2,4 pour dix expériences d'une heure, ce qui prouve que, bien que les poissons adaptés à l'eau de mer continuent de préférer l'eau douce, leurs séjours en eau de mer sont beaucoup plus longs.

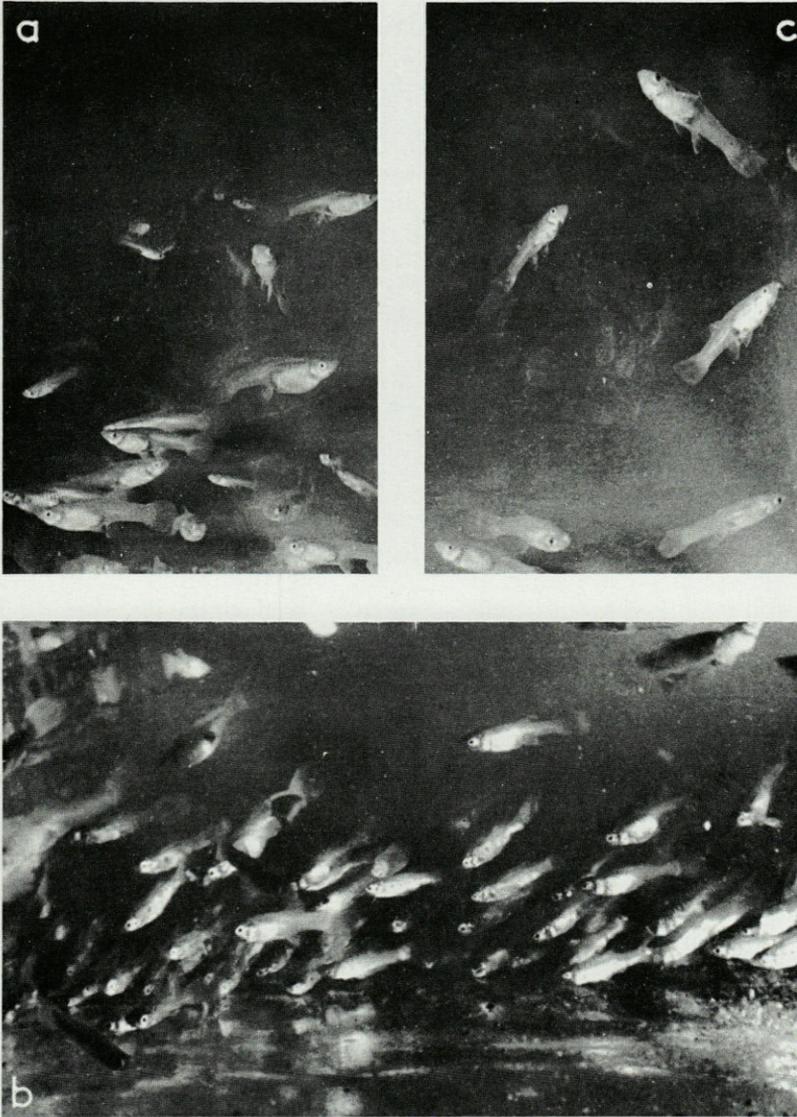


Fig. 8. — Photographies montrant l'influence des changements brutaux de la salinité du milieu. *a*, les poissons dans leur milieu naturel (eau douce); *b*, animaux de l'eau douce transférés directement en eau de mer; *c*, animaux adaptés à l'eau de mer et transférés directement en eau douce.

V. EURYHALINITÉ ET MIGRATION

Nous insistons sur le fait que ces expériences de comportement ainsi que les transferts graduels dans des milieux de plus en plus salins sont calqués directement sur la nature. La salinité est une barrière importante opposée à la migration des poissons, et ceux-ci arrivent parfois à la franchir grâce très probablement à une adaptation progressive qu'il est nécessaire de reconstituer en laboratoire pour pouvoir l'étudier. Les expériences qui consistent à transférer les poissons, soit directement, soit par paliers brutaux en eau de mer n'ont en effet pas d'équivalent naturel.

Les pluies abondantes, la fonte des neiges et les marées constituent (dans le cas des rivières qui débouchent dans la mer), un élément supplémentaire de production de zones mixohalines temporaires, permettant ainsi aux poissons euryhalins d'émigrer soit d'une rivière à une autre sur le même continent en passant par le littoral, soit du continent à des îles avoisinantes. Ceci permettrait d'expliquer les aires très étendues et variables des différentes tribus de Cyprinodontes *Poeciliidae* vivipares sur les continents américains et dans les îles de la mer des Antilles.

VI. RÉSUMÉ

1. La courbe de salinité d'un canal d'évacuation qui débouche dans la mer (à Hann, Nord de Dakar) est établie, montrant que la chlorinité est assez élevée sur 180 m à partir de l'embouchure. Les *Lebistes reticulatus* peuvent être trouvés à partir de 10 m de celle-ci.
2. Un appareil qui permet de créer, par siphonage, une variation continue et graduelle de salinité (contrôlable par conductimétrie) est décrit, ainsi qu'un autre, basé sur le principe de l'appareil de comportement de BAGGERMANN.
3. En transfert direct, *Lebistes reticulatus* supporte une concentration maximum de l'ordre de 50 %, en eau de mer. Par contre si les paliers sont multipliés, avec un temps de séjour dans chacun des milieux, on arrive à les adapter à l'eau de mer sans qu'il en résulte aucune mortalité, ce qui prouve qu'il s'agit d'un phénomène d'adaptation et non de sélection.
4. Le temps minimum d'adaptation à l'eau de mer par élé-

vation graduelle de salinité est de l'ordre de 36 heures (à une température de 20 à 25° C).

5. Pour une souche adaptée à l'eau de mer, le passage à l'eau douce se fait d'emblée.
6. Les animaux adaptés à l'eau de mer perdent leur adaptation au bout d'un séjour de 36 heures environ en eau douce. Ce temps est presque équivalent à celui nécessaire pour l'acquisition de l'adaptation.
7. Les jeunes sont moins résistants que les adultes au transfert direct en eau de mer, et les mâles sont moins résistants que les femelles.
8. L'aération prolonge la survie des poissons mis directement en eau de mer.
9. Les poissons sont très sensibles à la variabilité des températures des milieux de transfert. Parmi trois températures choisies (23, 28 et 32° C), celle de 28° s'est montrée optimum.
10. Sous l'influence d'un changement brutal de salinité du milieu ambiant, l'axe du corps s'incline différemment, soit vers le haut, soit vers le bas.
11. Mis en présence d'un choix entre l'eau douce et l'eau de mer (pure), les *Lebistes reticulatus* préfèrent l'eau douce. Après une adaptation à l'eau de mer, ils continuent à préférer l'eau douce, mais font un total de séjours plus grand en eau de mer que les témoins.
12. Nous pensons que cette euryhalinité adaptative ne se limite pas à cette espèce. Elle est probablement la cause de la répartition très étendue de certaines tribus appartenant aux Cyprinodontes *Poeciliidae*.

*Laboratoires de Biologie Animale et de Zoologie,
Faculté des Sciences, Dakar*

RÉFÉRENCES

- BAGGERMANN, B., 1957. — An experimental study on the timing of breeding and migration in the three stickleback. *Arch. Neerl. Zool.*, 12 : 105-317.
- BERT, P., 1871. — Sur les phénomènes et les causes de la mort des animaux d'eau douce que l'on plonge dans l'eau de mer. *C.R. Ac. Sci.*, 73 : 382-385 et 464-467.
- BERT, P., 1883. — Sur la cause de la mort des animaux d'eau douce que l'on plonge dans l'eau de mer et réciproquement. *C.R. Acad. Sci.*, 93 : 133-136.
- BERT, P., 1885. — Animaux d'eau douce dans l'eau de mer, animaux d'eau de mer dans l'eau dessalée, animaux d'eau de mer dans l'eau sursalée. *C.R. Acad. Sci.*, 35 : 525-527.

- BLACK, V.S., 1957. — Excretion and osmoregulation, dans « The Physiology of Fishes », publié par M. BROWN, vol. I (Métabolism). *Academic Press Inc. Publishers*, New York.
- CORDIER, M. et MAURICE, A., 1957. — Influence du passage de l'eau douce à l'eau salée sur les échanges respiratoires et l'absorption intestinale du glucose chez la Tanche (*Tinca vulgaris* L.). *Acta Physiol. Pharmacol. neerl.*, 6 : 431-439.
- DUVAL, M., 1925. — Recherches physico-chimiques et physiologiques sur le milieu intérieur des animaux aquatiques. Modifications sous l'influence du milieu extérieur. Thèse Sc. Nat., Paris, Blondel la Rougery, Paris.
- FAGE, L. et FONTAINE, M., 1958. — Migration dans « Traité de Zoologie », publié par P.-P. GRASSÉ, 13 (3) : 1850-1884, Masson, Paris.
- GARREY, W.E., 1915. — The resistance of fresh-water fishes to changes of osmotic pressure and chemical conditions. *Amer. J. Physiol.*, 39 : 313-329.
- GUEYLARD, F., 1924. — De l'adaptation aux changements de salinité. Recherches biologiques et physico-chimiques sur l'Épinoche (*Gasterosteus leirurus* Cuv. et Val.). Thèse Sci. Nat., Paris, Vigot, Paris.
- GILLES LA ROCHE, 1950. — Résistance des Saumoneaux à l'eau salée. *Annales de l'Acfas*, 17 : 125-128.
- GUNTER, G., 1942. — A list of the fishes of the mainland of North and Middle America recorded from both fresh water and sea water. *Am. Midland Naturalist*, 28 : 305-326.
- HOLLIDAY, F.G.T. et BLAXTER J.H.S., 1961. — The effects of salinity on Herring after metamorphosis. *J. mar. biol. Ass.*, 41 : 37-48.
- JASKI, C.J., 1939. — Ein Oestruszyklus bei *Lebistes reticulatus*. *Proc. K. Ak. Wet.*, 42 : 201-207.
- KEYS, A. et WILLMER, E.N., 1932. — « Chloride secreting cells » in the gills of fishes, with special reference to the common eel. *J. Physiol.*, 76 : 368-378.
- LOEB, J., 1913. — Über die Anpassung von *Fundulus* an höhere Konzentrationen. *Biochem. Zeitschr.*, 3 : 391-405.
- PICKFORD, G. et ATZ, W., 1957. — The physiology of the pituitary gland of Fishes., *N.Y. Zool. Soc.*
- PORA, E.A. et ACRIVO, C., 1939. — Considérations histophysiologiques sur les branchies des Poissons téléostéens soumis aux variations de salinité du milieu ambiant. *Ann. Sci. Univ. Jassy.*, 25 : 439-446.
- RAFFY, A., 1952. — Influence des variations de la température sur l'osmorerégulation de petites Carpes en eau douce et en eau salée. *C.R. Soc. Biol.*, Paris, 142 : 908-910.
- REGNARD, P., 1891. — Recherches expérimentales sur les conditions physiques de la vie dans les eaux, Masson, Paris.
- RINGER, S., 1884. — Concerning the influence of saline media on fishes, etc. *J. Physiol.*, 5 : 98-115.
- RENFRO, W.C., 1959. — Survival and migration of fresh-water fishes in salt water. *The Texas J. Sci.*, 11 (2) : 172-180.
- SIEDLECKI, M., 1903. — Sur la résistance des Épinoches aux changements de la pression osmotique du milieu ambiant. *C.R. Acad. Sc.*, 137 : 469-471.

RECHERCHES
SUR LES *THEODOXUS FLUVIATILIS* L.
(GASTÉROPODES-PROSOBRANCHES)
DU BAS-LANGUEDOC :
ÉCOLOGIE ET VARIATIONS MORPHOLOGIQUES

par Claude LAFON et Pierre ALAUSE

La région que nous avons prospectée est limitée à l'Ouest par l'Hérault, à l'Est par le Vidourle, au Nord par la montagne de la Séranne. La répartition de l'eau y est caractéristique des régions méditerranéennes. La plupart des rivières ont un régime intermittent : roulant d'épais flots jaunâtres après les abondantes pluies d'automne, elles se réduisent à une traînée de cailloux les trois-quarts de l'année. Les eaux d'infiltration, qui circulent dans un vaste réseau souterrain, s'extériorisent parfois sous forme de résurgences ou sources vauclusiennes.

Les *Theodoxus fluviatilis* sont présentes dans moins de 20 % des points d'eau que nous avons prospectés; elles ne s'observent qu'au voisinage des résurgences à fort débit, gardant de l'eau en toute saison (fig. 1). ANKEL (1936), étudiant leur répartition, les trouve en Allemagne dans des eaux saumâtres à teneur élevée en chlorure de sodium (13 à 15 ‰). Dans le Languedoc, nous n'avons jamais observé l'espèce dans les eaux des lagunes.

Dans de nombreuses rivières pérennes (Buèges, Lez, ruisseau de Brissac, de Saint-Jean, etc.), les populations de *Theodoxus*, réparties de manière discontinue, s'effritent au fur et à

mesure de l'éloignement de la résurgence, pour finalement disparaître, alors même que la partie aval est régulièrement enssemencée par le courant, qui transporte par exemple à chaque crue des petites pierres portant fixés des individus adultes et des œufs.

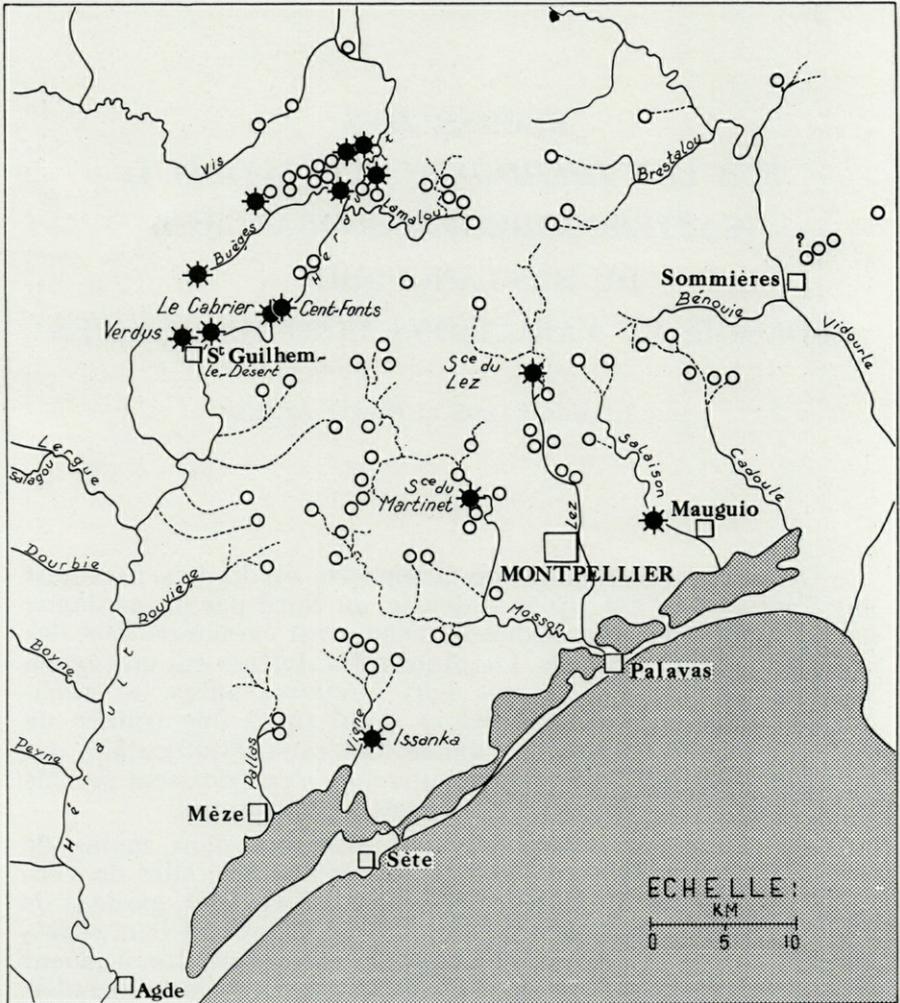


Fig. 1. — Les résurgences n'hébergeant pas de *Theodoxus fluviatilis* sont indiquées par un cercle blanc, celles à *Theodoxus* par un cercle denticulé noir. Les lignes pointillées représentent les rivières s'asséchant les trois-quarts de l'année, les lignes continues, les rivières permanentes.

Dans d'autres rivières, les *Theodoxus* n'existaient que vers l'aval, mais toujours corrélativement à l'existence d'une source latérale (par exemple source du Martinet dans la Mosson, résurgence d'Issanka dans la Viène). Dans certains cas enfin (Salaison), c'est la même eau qui, par simple passage dans la terre, devient apte, dès sa résurgence, à permettre la vie des *Theodoxus*.

Nous avons cherché à étudier quels étaient les facteurs écologiques responsables de cette répartition particulière. SEGERS-TRALE (1944), d'après des observations faites dans le Nord de l'Europe, pense que la répartition de *Theodoxus fluviatilis* est liée à la richesse en calcaire des eaux; seules les eaux calcaires en hébergeraient et la teneur en calcium serait un facteur de première importance dans l'expansion de ce Mollusque. Il nous semble que ce facteur ne joue pas de rôle limitant dans la zone que nous avons prospectée : toutes les eaux visitées étaient en effet riches en alcalino-terreux (de 3 à 6 milli-équivalents par litre), et telle source, relativement moins riche, hébergeait des *Theodoxus*, alors même qu'une rivière voisine, plus riche en calcium, était désertée par ce Mollusque après un certain parcours, sans variation importante de cet élément.

Parmi les facteurs écologiques abiotiques du milieu susceptibles d'intervenir, nous avons noté, dans les zones de peuplement, la constance d'un taux élevé de CO₂ dissous. Cette teneur en CO₂ est peut-être seulement le signe de la résurgence d'une eau hypogée; elle conditionne peut-être aussi, directement ou indirectement, la répartition des *Theodoxus*.

ALAUSE (1962) a déjà constaté, pour les populations de Planaires, que *Polycelis felina*, par exemple, colonise les eaux les plus riches en CO₂; *Dugesia gonocephala* sous sa forme sexuée vient ensuite; *Dugesia tigrina*, seule ou associée à la précédente sous sa forme asexuée, vit dans les eaux les plus pauvres en CO₂.

Les *Theodoxus* ne semblent pas avoir des exigences aussi strictes que les Planaires; elles ne se rencontrent cependant que dans la zone où l'acidité carbonique libre est notable.

La valeur, au moins comme signe, d'une augmentation de l'acidité carbonique, nous paraît confirmée par des observations comme celle du Salaison où la même eau, qui primitivement n'héberge pas de *Theodoxus*, devient apte à le faire après un cours hypogé de quelques kilomètres. Dans ce cas, une de toutes les caractéristiques physico-chimiques de cette eau s'est modifiée de façon importante, l'acidité carbonique, dont l'aug-

mentation (qui a entraîné d'ailleurs la mise en solution d'autres substances) coïncide avec l'apparition de *Theodoxus*.

Mais les *Theodoxus* ne sont pas réparties selon un gradient numérique décroissant rigoureusement comparable à celui du CO₂. D'autres conditions (température, courant, substrat) doivent être aussi nécessairement réalisées. De plus, si nous ne trouvons pratiquement jamais de *Theodoxus* dans les premiers mètres d'une résurgence, c'est, pensons-nous, à cause de la moindre oxygénation de l'eau cependant riche en CO₂.

Nous avons observé que les *Theodoxus fluviatilis* sont toujours en compagnie d'espèces végétales et animales déterminées avec lesquelles elles forment une biocénose typique. Nous n'insisterons pas ici sur la composition de cette biocénose; nous dirons seulement que la plupart des espèces animales présentent des adaptations en rapport avec l'intensité du courant : aplatissement dorso-ventral, appareil de fixation développé. Nous signalerons aussi que la Chaetophoracée (Ulothricale du groupe des Chlorophycées), qui colore en vert le test de nombreuses *Theodoxus*, semble étroitement inféodée à son support : on la trouve uniquement sur les coquilles de ces Mollusques et jamais sur les cailloux sur lesquels ils rampent. Les *Theodoxus* sont liées, d'une part aux espèces d'Algues dont elles se nourrissent, d'autre part à certains prédateurs comme l'Hirudinée *Glossiphonia complanata* dont elles sont la proie essentielle. Mais à l'intérieur du macrobiotope dont on vient brièvement d'esquisser quelques traits écologiques et biocénotiques, en coexistence habituelle avec les Planaires *Polycelis felina* ou *Dugesia gonocéphala* (sexuée), des mollusques du genre *Ancylus*, etc., *Theodoxus fluviatilis* présente d'importantes variations : suivant les rivières ou les ruisseaux prospectés, on la voit varier par la taille, la forme et la couleur.

MOQUIN-TANDON (1855) avait décrit trois variétés de *Theodoxus (Neritina) fluviatilis* dans la région de Montpellier : les variétés *thermalis*, *boetica* et *zebrina*. Outre ces variétés, il distinguait des sous-variétés en s'appuyant sur les variations de coloris de la coquille (*viriscens*, *imbricata*, *maculata*, *scripta*, *flammulata*, *vittata*, *lineolata*, *punctulata*, *unicolor*). Ces variations de couleur se superposant aux variations de taille et de forme, il en résulte une extraordinaire diversification de l'espèce.

GERMAIN (1930) reprend les données de MOQUIN-TANDON, tout en pensant que les variétés et les sous-variétés ne sont guère valables.

Les nombreuses mensurations et observations de tests que nous avons faites nous ont montré, suivant les stations, d'impor-

tantes variations de taille, de forme et de coloration. Chaque rivière montre en gros des *Theodoxus* de forme et de taille semblables, cependant des variations dans une localité donnée peuvent se faire jour et peuvent même être importantes. Aussi peut-on dire qu'il existe des intermédiaires faisant passage entre les diverses formes.

Les formes unicolores (la variété *boetica* de MOQUIN-TANDON) qui sont d'un brun-noir, sont exceptionnelles dans le bas Languedoc. Nous avons trouvé quelques individus de ce type dans le Verdus et la Source du Foulon. La plupart du temps deux couleurs sont superposées, ou alternent plus ou moins régulièrement, en déterminant des dessins caractéristiques : points, taches, flammes, linéoles blancs ou blanchâtres se détachant sur un fond coloré. Il existe tous les intermédiaires entre les formes extrêmes toujours rares, chaque rivière possédant une forme dominante propre (par exemple flammules irrégulières sur fond verdâtre pour la Buèges, lignes longitudinales parallèles pour le Salaison) que l'on peut facilement relier aux formes des rivières voisines.

GERMAIN (1930) distingue les formes *maculata* des formes *immaculata*, d'après la présence ou non d'une tache noire sur la columelle. Il s'agit souvent en réalité du tortillon noirâtre du corps du Mollusque, vu par transparence au travers de la lame columellaire devenue translucide. La présence de cette tache n'est pas répartie d'une façon anarchique; seuls les individus de certaines populations la présentent (Verdus par exemple).

L'étude que nous avons faite des différentes formes de *Theodoxus fluviatilis* ne nous a montré aucune corrélation significative entre les caractères écologiques des stations et les variations du test. Les *Theodoxus*, quelle que soit leur forme, ont les mêmes exigences écologiques; nous ne pouvons donc parler là d'écotypes, conséquence de la variabilité des milieux dans lesquels vivent ces Mollusques.

Laboratoire de Zoologie,
Professeur O. TUZET,
Faculté des Sciences,
Montpellier

AUTEURS CITÉS

- ALAUSE, P., 1962. — Gradient d'acidité carbonique dans deux rivières du département de l'Hérault et Ecologie de *Polycelis felina* Dallyel. *Vie et Milieu*, 13 (2) : 341-358.
- ANKEL, W.E., 1936. — Die Frassspuren von *Helcion* und *Littorina* und die Funktion der *Radula*. *Verh. Deutsch. Zool. Ges. Leipzig*, 38 : 174-186.
- GERMAIN, L., 1930. — Faune de France. Mollusques terrestres et fluviatiles. 21, 1^o partie. Le Chevallier Edit.
- MOQUIN-TANDON, A., 1855. — Histoire Naturelle des Mollusques terrestres et fluviatiles de France. J.M. Baillière Edit., 1 et 2, 540-542, pl. 42.
- SEGERSTRÄLE, S.G., 1944. — Über die Verbreitung der Süßwasserschnecke *Theodoxus* (*Neritina*) *fluviatilis* L. in Finnland. *Soc. Sc. Fenn. commentationes Biol.*, 9 (12) : 1-5.

EUPROCTUS ASPER
DANS LES PYRÉNÉES-ORIENTALES

par Claude COMBES et Louis-Philippe KNOEPFFLER

Le genre *Euproctus* Dugès, 1852 (Amphibiens, Urodèles) comprend actuellement trois espèces : *Euproctus montanus* (Savi, 1838) spécial à la Corse, *Euproctus platycephalus* (Gravenhorst, 1829) endémique en Sardaigne et enfin *Euproctus asper* Dugès, 1852, commun dans le centre de la chaîne pyrénéenne. Cette espèce, qui fut étudiée par WOLTERSTORFF (1900, 1925), au point de vue systématique et par DESPAX (1923), au point de vue anatomique et biologique, est abondamment répandue dans les hautes vallées de l'Adour et de la Garonne entre 700 et 2 400 m d'altitude. Sur le versant espagnol, elle a été recueillie en Cerdagne, en Andorre, dans la haute vallée du Sègre, en Estramadure et en deux points situés à basse altitude dans le bassin du Ter et dans celui de la Muga. Ces deux localités ont été mises en doute par DESPAX (1923) et MERTENS (1925), en raison même de leur faible altitude (moins de 200 mètres).

Dans les Pyrénées-Orientales, l'espèce n'a jamais été recueillie et toutes les recherches sont restées vaines jusqu'en 1962. Nous avons, à la suite de DESPAX et de bien d'autres naturalistes, fouillé toutes les eaux vives du département à la recherche de cet intéressant Amphibien. Aucun des nombreux lacs du massif du Carlitte, aucun des petits torrents qui se jettent dans la Têt ne semblent l'héberger et les étangs de Nohèdes, comme les ruisselets ou les petits lacs de la sauvage vallée de Carança ne nous ont fourni trace de l'espèce.

Les Euproctes ont été considérés depuis leur description

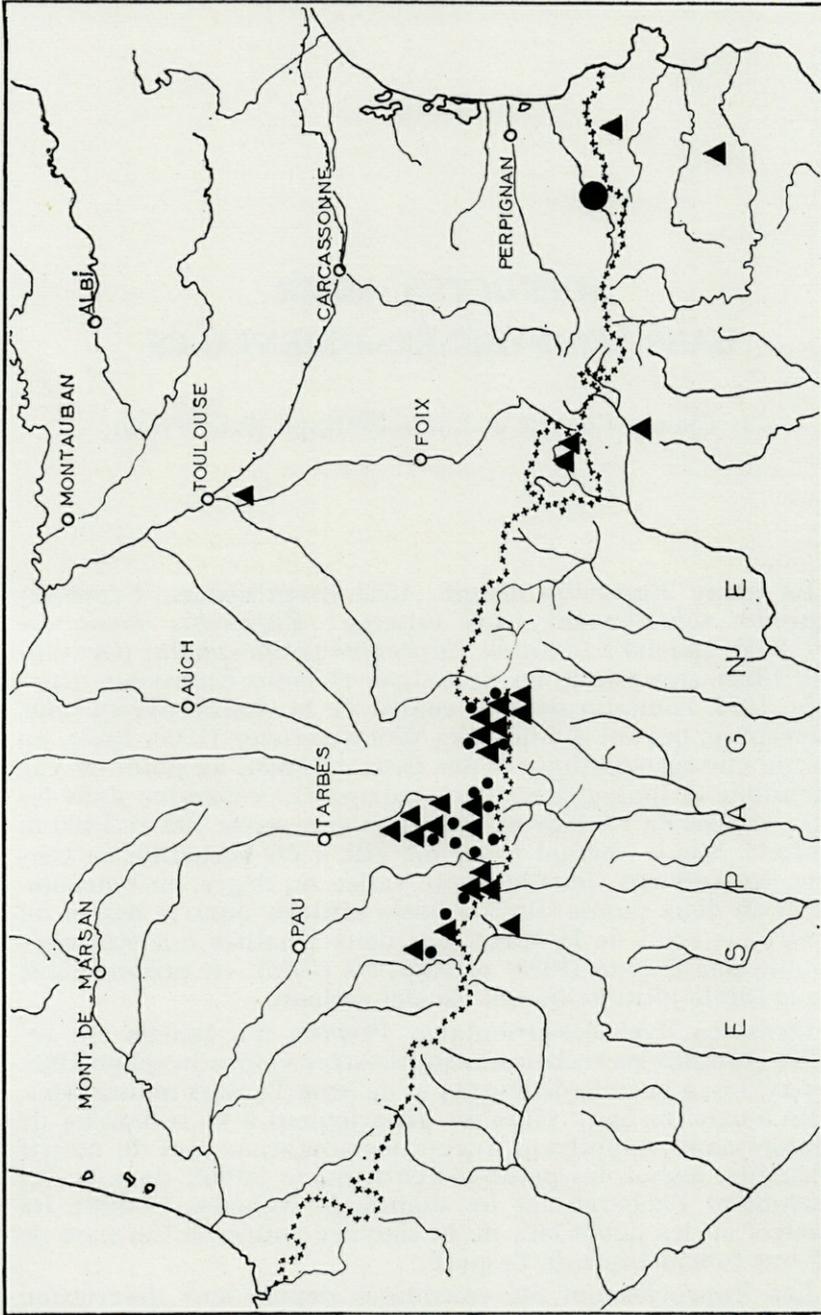


Fig. 1. — Carte de répartition d'*Euproctus asper*.
Le gros point indique la nouvelle station.

comme des formes de haute montagne vivant dans des eaux glacées et cristallines et les populations d'altitude moyenne seraient des colonies secondaires et d'existence précaire fondées par des exemplaires entraînés par les crues des torrents.

La valeur de cette hypothèse est déjà très réduite en ce qui concerne *Euproctus platycephalus*, car la Sardaigne culmine à 1 800 mètres d'altitude environ et les premiers ruisseaux habités par ces Tritons se trouvent à 1 200 mètres.

Les représentants de cette espèce habitent donc des ruisseaux et des mares de moyenne altitude et de plaine et ceux-ci sont souvent loin d'être glacés et cristallins, bien que peuplés par de belles colonies d'Euproctes, comme nous avons pu le constater à plusieurs reprises. Les recherches de GOUX (1953, 1955) sur *Euproctus montanus* ont fourni des constatations identiques. Les Euproctes de Corse habitent presque toutes les eaux de l'île quelle que soit leur altitude, à condition qu'elles ne soient pas vaseuses ou trop salées.

Cette espèce présente une certaine tolérance à la salinité, phénomène peu commun chez les Urodèles et non étudié jusqu'à présent. Deux facteurs semblent limiter sa présence, ou tout au moins son abondance : la vase et la Truite de Corse (*Trutta trutta macrostigma*); partout où ces deux éléments n'existent pas, les Euproctes sont présents.

L'Euprocte des Pyrénées peut lui aussi vivre à basse altitude. Une belle colonie de ces Amphibiens fut découverte, par l'un de nous, en avril 1962, à une altitude inférieure à 250 mètres, dans les Pyrénées-Orientales et à moins de 15 kilomètres à vol d'oiseau de la station signalée par BOSCA (1877). Cette station transpyrénéenne, mise en doute par DESPAX et MERTENS est donc très plausible et nous tenterons de la retrouver. La colonie découverte est située au carrefour de la route de Mas Pagris et Montalba dans la vallée du Mondony, affluent torrentiel du Tech, à quelques kilomètres en amont d'Amélie-les-Bains. Il s'agit d'un minuscule ruisseau dans lequel les Truites du Mondony ne peuvent remonter.

Les Euproctes ont été recueillis dans une vasque rocheuse profonde d'un mètre environ, au pied d'une cascade d'une vingtaine de mètres de hauteur, abondante en hiver et pratiquement tarie en été. La température de cette vasque était de 12° C en avril. Au mois de juin, elle était de 15° C et en août, le peu d'eau qui restait atteignait 18° C. Lors de notre première visite, la colonie était composée de nombreux adultes dont certains en amplexus, ainsi que de quelques larves. A la fin du mois d'avril, les adultes avaient tous disparu, mais les larves jeunes ou en

voie de transformation étaient abondantes. En mai, toutes les larves avaient quitté l'eau et la station était déserte.

Nous nous trouvons en présence d'un intéressant décalage du cycle sexuel de ces Urodèles. En effet, les *Euproctus asper* des Hautes-Pyrénées pondent en été (DESPAX, 1923) de même que les populations montagnardes d'*Euproctus montanus* dont le cycle n'a pas encore fait l'objet d'une étude approfondie.



Fig. 2. — Vasque rocheuse peuplée de nombreux Euproctes.

Lors de la prochaine saison de ponte, nous étudierons le cycle sexuel de cette curieuse population qui paraît se rapporter au type de l'espèce et non à l'une des races locales décrites par WOLTERSTORFF de divers lacs pyrénéens.

Aucun Euprocte n'a été découvert jusqu'à présent dans les autres ruisseaux de la région d'Amélie où nous poursuivons nos investigations.

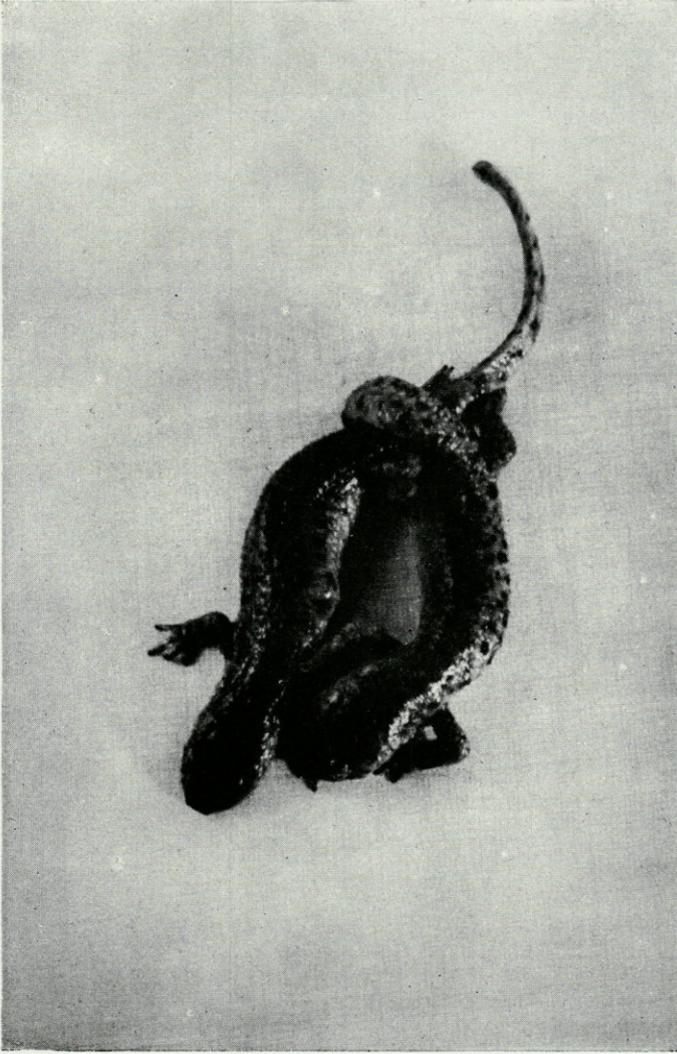


Fig. 3. — *Euproctus asper* ♂ et ♀ en amplexus.

BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

- ANGEL, F., 1946. — Faune de France, 45, Reptiles et Amphibiens.
- DESPAX, R., 1923. — Contribution à l'étude anatomique et biologique des Batraciens Urodèles du groupe des Euproctes et spécialement de l'Euprocte des Pyrénées.
- MERTENS, R., 1925. — Amphibien und Reptilien aus dem nördlichen und östlichen Spanien, gesammelt von Dr. F. HAAS. *Abh. senck. Ges. Frankfurt*, 39 (1) : 28-129, 3 pl.
- WOLTERSTORFF, W., 1900. — Révision des espèces du genre *Euproctus* Gené, suivie d'un aperçu des Urodèles de la région palé-arctique. *Feuille des J. Nat.*, 31 : 33-38 et 73-81, 1 pl.

UN TRICHOPTÈRE
MODIFICATEUR PRINCIPAL DU MILIEU
***STENOPHYLAX STELLATUS* CURTIS**

par Serge JACQUEMART et Yves COINEAU (1)

Les larves de Trichoptères jouent un rôle important dans les biocénoses des eaux douces; elles constituent l'un des principaux éléments de la chaîne trophique, cycle qui s'achève par la faune ichthyologique. Très souvent, une espèce pullule mais cette abondance reste généralement locale; les tufs à Trichoptères sont témoins de la prolifération que peuvent parfois présenter ces insectes.

Néanmoins, ces larves n'interviennent pas comme agents modificateurs du milieu; il est d'ailleurs assez rare, dans les biotopes limniques, que les animaux orientent l'évolution du biotope; ils tendent seulement à modifier la composition physico-chimique de l'eau.

Nous avons pu observer un cas très intéressant de modification d'un biotope par un Trichoptère, ceci dans le cours supérieur de la Massane (Pyrénées-Orientales).

La source de cette rivière se situe vers 1 000 m au Sud du massif de la Massane; son cours traverse des roches métamorphiques et présente une allure très capricieuse : étalements, cascades avec vasques, etc. Dès sa naissance, la Massane parcourt une hêtraie qui s'étend sur le flanc nord-ouest des Albères. Cette

(1) Missions S. JACQUEMART dans les Pyrénées-Orientales (3^e note).

forêt est célèbre pour son caractère relictuel; c'est une enclave à végétation septentrionale isolée en pleine région méditerranéenne. Après la traversée de la réserve naturelle aménagée dans cette forêt, la rivière présente l'aspect général des cours d'eau des Albères avec vasques et « rock pools » pour finir par un cours à allure d'oued. Comme la hêtraie est densément boisée par de grands arbres, une épaisse couche de feuilles couvre le sol dès l'hiver. En automne, ces feuilles tombent dans la rivière et l'obstruent complètement. Le cours, capricieux, présente des goulots étroits où la litière s'accumule.

Les amas de feuilles qui encombrant la Massane ont un aspect spécial : le courant, poussant les feuilles, celles-ci se placent perpendiculairement au sens du courant. Elles se collent les unes sur les autres, l'ensemble ayant l'aspect d'une pâte feuilletée; certains de ces amas sont encore visibles en été lorsque le niveau d'eau a baissé. Si cette masse de feuilles demeurait, une saison suffirait pour colmater complètement l'eau libre et, après quelques années, le cours ne serait plus qu'un bournier de matière humique.

Or un Trichoptère est particulièrement abondant dans cette partie du cours de la Massane : *Stenophylax stellatus* Curtis. C'est cette larve qui nettoie le cours de la rivière en dévorant complètement l'amas de feuilles.

Les Trichoptères s'attaquent à la base de la couche où les feuilles sont dans l'eau. En avril, le cours de la rivière était pratiquement libéré et, lorsque nous soulevions les feuilles accumulées verticalement dans les petites anses calmes, la base du « gâteau » était rongée par les larves qui s'y agrippaient. La masse de végétaux mangée est extraordinaire mais s'explique par la voracité de ces larves; en effet, la moindre particule végétale tombant dans l'eau est attaquée par celles-ci. Si une extrémité de rameau tombe dans l'eau et y flotte, des larves s'y accrochent et les feuilles immergées sont dévorées. Nous avons observé que les larves attaquaient immédiatement des débris divers jetés par des campeurs. Fin avril, la rivière présentait la phase ultime d'élimination des feuilles; il ne demeurait plus que des feuilles intactes dans les anses à faible profondeur et les « rock pools »; au fond de la rivière s'étendaient des bancs de feuilles attaquées et de boue humique résultant de la digestion des matières végétales; les larves abondaient dans ces gîtes. Nous avons jeté de la poudre très fine sur la surface de l'eau pour déterminer la morphologie des courants et des tourbillons; nous avons pu constater ainsi que les amas de végétaux correspondent à des zones à courants faibles ou tourbillonnaires. Dans

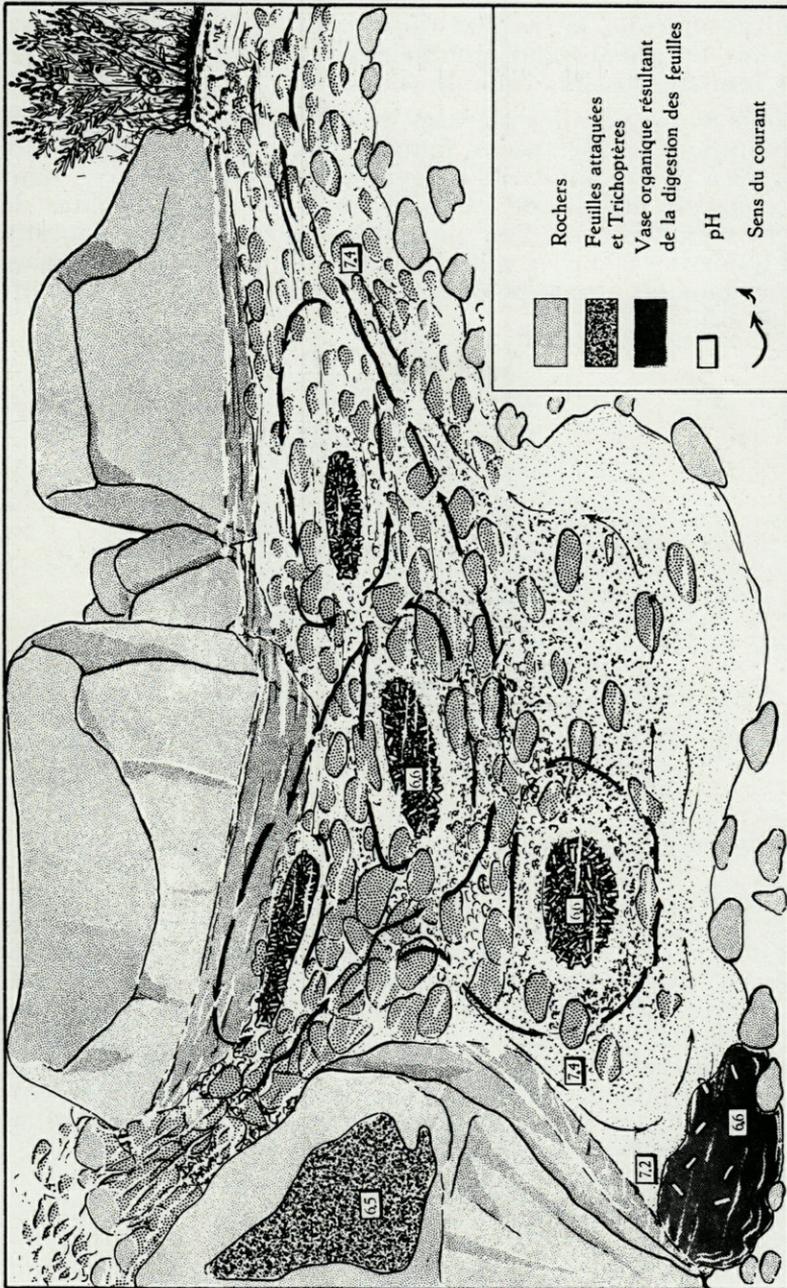


Fig. 1. — Schéma de la localisation des larves et des amas de feuilles dans La Massane.

les autres endroits, la matière végétale et les feuilles réduites à de menus fragments sont éliminées par *lévigation*, l'action des larves rendant possible celle du courant.

Nous avons pris des mesures de pH à l'aide d'un pH-mètre Beckman dont les électrodes, munies d'un câble, pouvaient être disposées à divers points de la rivière. Nous avons trouvé, dans l'eau courante, un pH de 7,3 à 7,4, mais au sein des amas de feuilles, même situées dans un tourbillon et en plein courant, le pH tombait à 6,6; c'est celui que l'on retrouvait dans les anses calmes; dans les « rock-pools » encombrés de végétation, le pH était de 6,5.

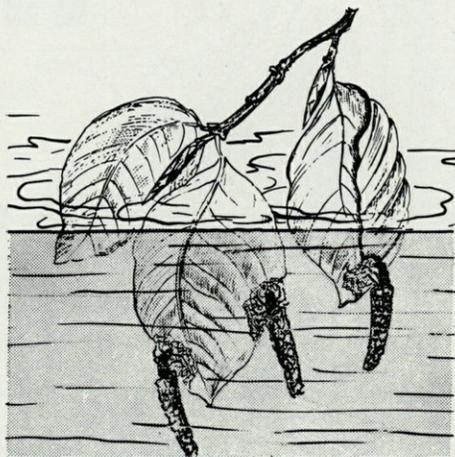


Fig. 2. — Larves attaquant un rameau de Hêtre tombé à l'eau.

La population trichoptérologique de cette partie de la Massane est riche en espèces, mais seul *Stenophylax stellatus* Curtis y pullule. Nous avons ici le cas d'un organisme qui, par son action, permet l'existence d'une faune très riche et très variée; en effet, sans la présence de ce Trichoptère, la vie serait pratiquement impossible dans le cours supérieur de la Massane en raison du colmatage mécanique et de l'évolution physico-chimique du milieu : augmentation de l'acidité, particules colloïdales en suspension, dégagement de H_2S , etc.

STENOPHYLAX STELLATUS CURTIS

LARVE

Le fourreau, légèrement courbe, est constitué de petites pierres plates.

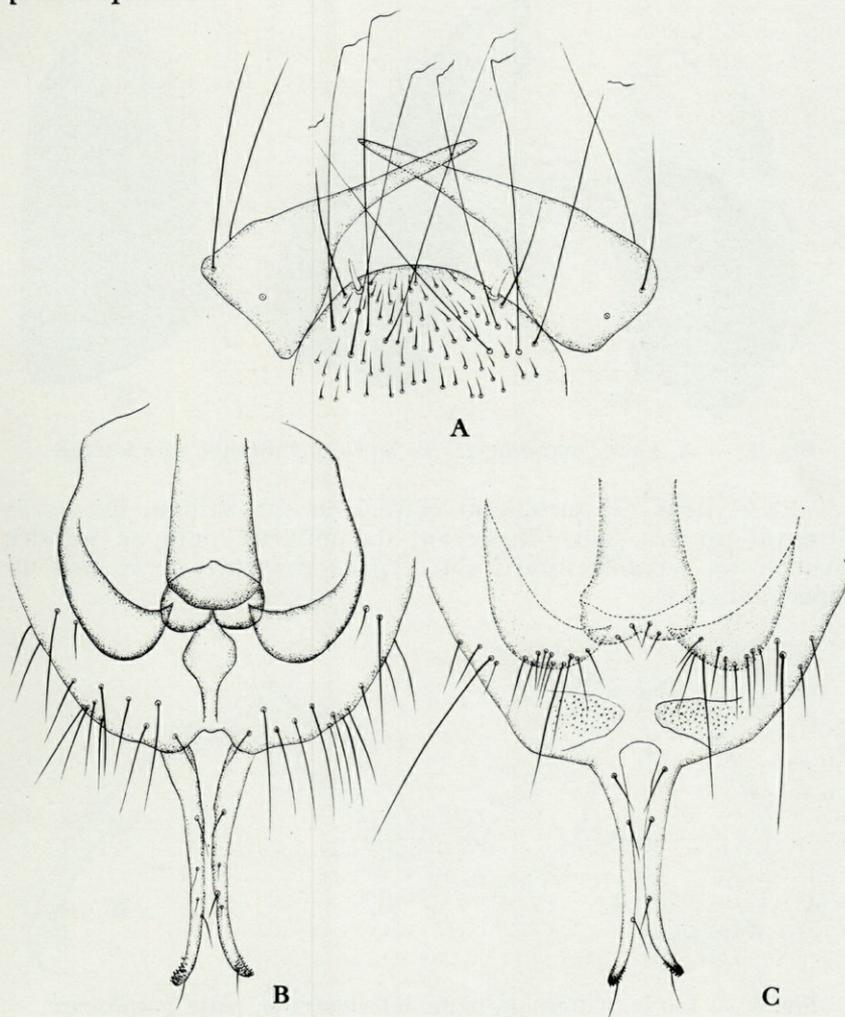


Fig. 3. — a, nymphe, plaque labrale et mandibules; b, extrémité postérieure de l'abdomen, vue dorso-ventrale; c, extrémité postérieure de l'abdomen, vue ventro-dorsale.

La tête est couverte de spicules de forme ogivale.

Les mandibules sont épaisses et trapues, elles portent quatre larges dents à extrémité arrondie.

La plaque labrale, densément poilue au bord postérieur, porte dans chaque angle antérieur un groupe de trois grandes soies.

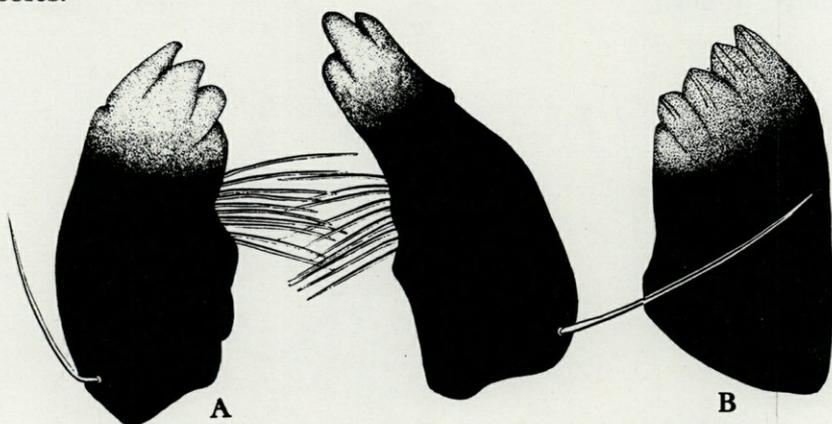


Fig. 4. — A, larve, mandibules; B, larve, mandibule, vue latérale.

Le clypéus est fortement rétréci en son milieu, les bords formant un arc puis s'incurvant de nouveau pour se joindre ensuite. La seconde moitié du clypéus présente de ce fait un aspect lancéolé.

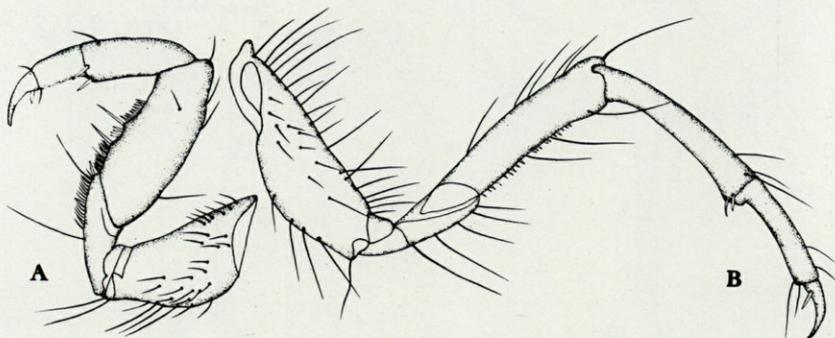


Fig. 5. — Larve, pattes : A, patte antérieure; B, patte postérieure.

Les deux premiers segments thoraciques sont abondamment plantés de soies disposées par groupes symétriques, ainsi que

les taches brunes, pigmentées. Ces dernières présentent, pour le premier segment, un motif en Y, l'angle étant ouvert vers l'arrière; près de chaque branche se trouve une petite série de taches disposées parallèlement à la branche. Il y a un groupe aux angles postérieurs, certaines taches étant allongées. Sur la partie antérieure se trouvent quelques taches dispersées. Les taches du deuxième segment forment un nuage allongé, partant du centre à la partie postérieure et se dirigeant vers les angles antérieurs.

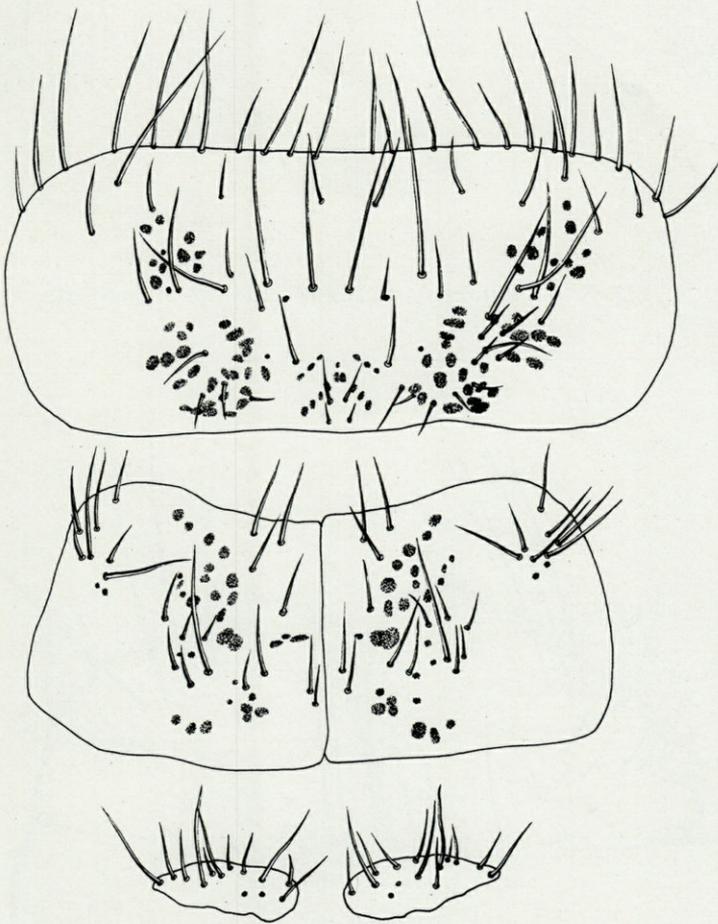


Fig. 6. — Segment thoracique.

NYPHE

La plaque labrale est plantée d'une multitude de petites soies; elle porte deux groupes symétriques de quatre soies très



Fig. 7. — Chétotaxie du premier tergite abdominal.

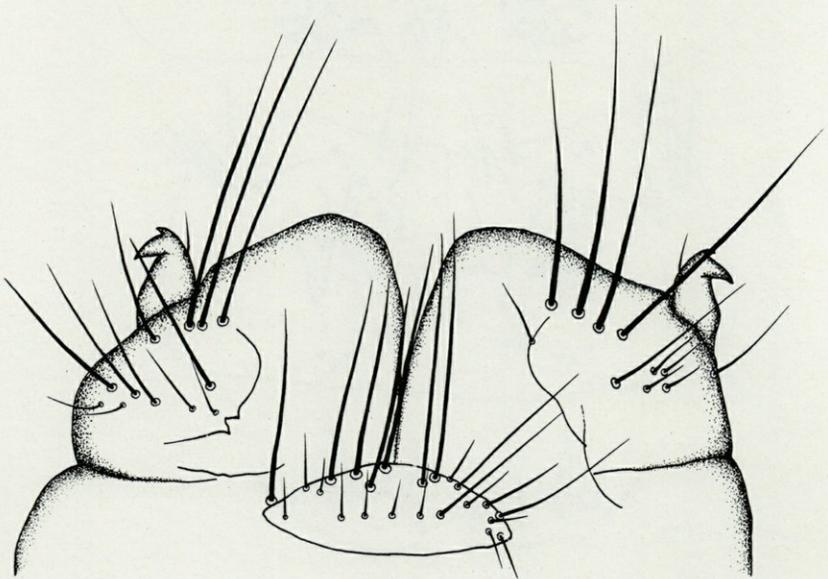


Fig. 8. — Extrémité de l'abdomen, vue dorso-ventrale.

longues et très fines à extrémité flottante. Le bord antérieur porte deux épines.

Les mandibules ne sont pas denticulées.

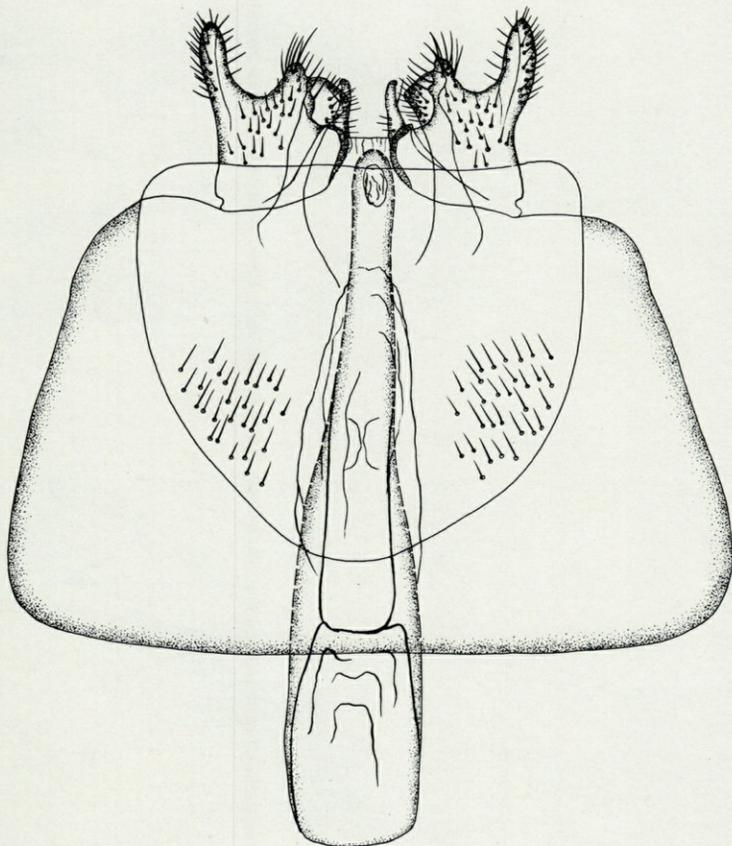


Fig. 9. — Adulte, génitalia ♂, vue latérale.

Les bâtonnets anaux de la nymphe sont légèrement recourbés vers l'extérieur; leur pointe arrondie porte une soie près de son extrémité, tandis que le corps du bâtonnet en montre quatre.

Le dernier segment porte de nombreuses soies à sa face dorsale.

Les plaques dorsales présentent de grosses épines, à extrémité arrondie. Elles sont en nombre assez variable, généralement trois à quatre avec, au-dessus, quelques épines plus petites.

La grande plaque porte des crochets, plus courts, au nombre d'une douzaine environ.

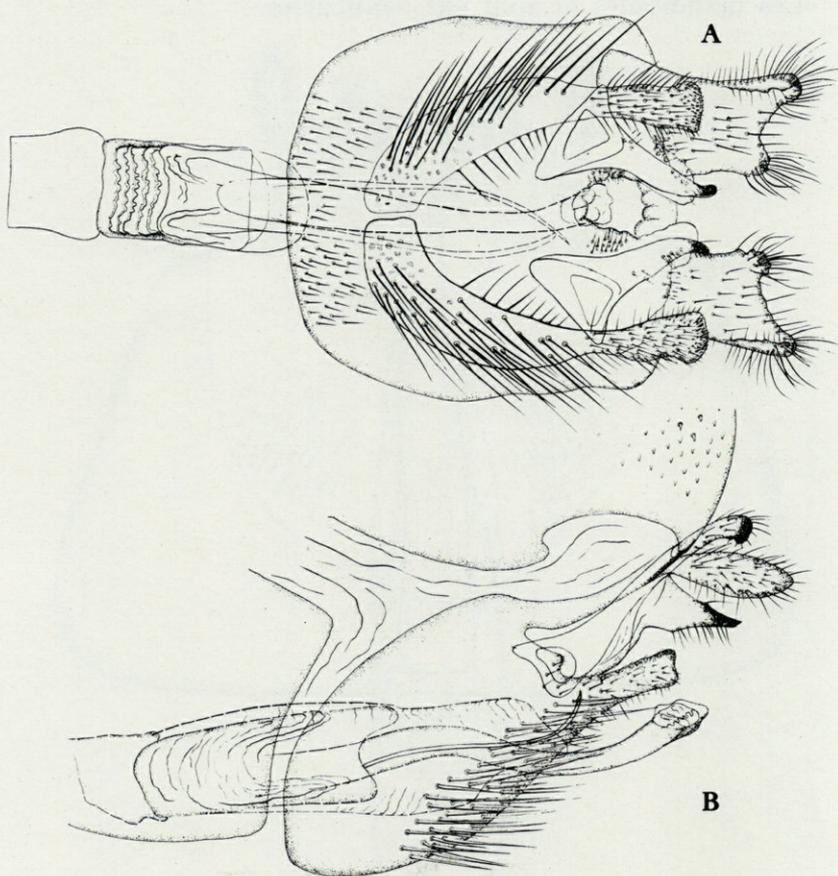


Fig. 10. — A, génitalia ♂, vue dorso-ventrale.
B, génitalia ♂, vue ventro-dorsale.

ADULTE

Genitalia mâles. — Le pénis présente une base cylindrique épaisse contenant une membrane érectile repliée; cette dernière porte un long style courbe à extrémité membraneuse; ce style est flanqué de deux longs titillateurs aigus.

Les gonopodes sont larges, à bord postérieur densément

couvert de soies; le dessus du gonopode émet un processus à extrémité élargie et couverte de très petites soies.

Les appendices intermédiaires, à base triangulaire, se terminent en pointe émoussée et très sclérifiée; la face inférieure porte des soies.

Les pièces supérieures qui, vues de profil, montrent une silhouette lancéolée, sont de forme complexe. Vues ventro-dorsalement, elles sont larges à bords parallèles; le bord postérieur est concave et les angles sont arrondis; l'extrémité se projette vers l'extérieur. Elles sont abondamment garnies de poils.



Planche 1. — Accumulation de feuilles sous la hêtraie de la Massane.

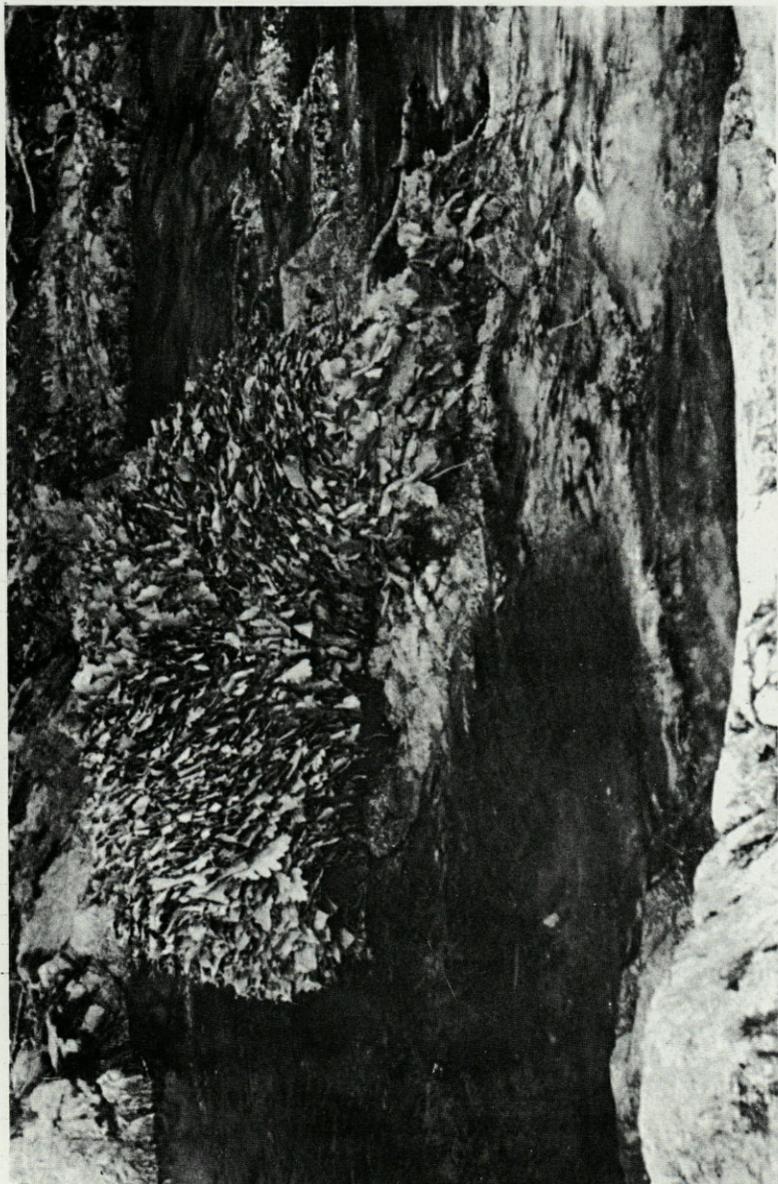


Planche 2. — Un « gâteau » de feuilles mortes soustrait à l'action des Trichoptères par la baisse de niveau.

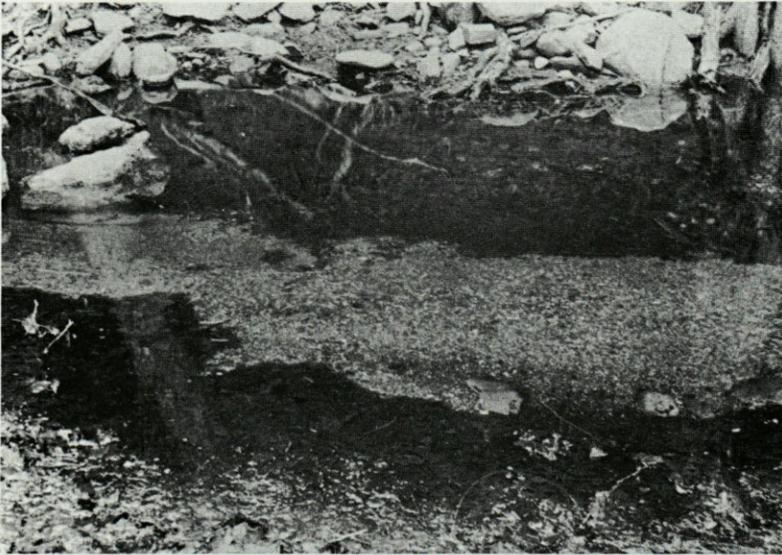
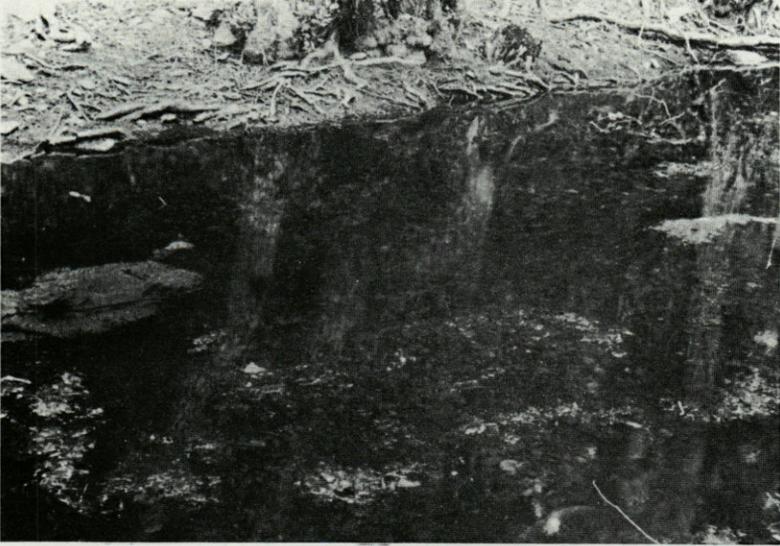


Planche 3. — En haut, début de l'attaque de la masse végétale, à gauche et à droite une partie du fond est dégagée; à l'avant-plan les feuilles affleurent la surface. En bas, le lit de feuilles est largement entamé par les Trichoptères; à l'action de ces derniers s'ajoute celle du courant.

**ORIGINE PATHOLOGIQUE
DU *STRATUM ARGENTEUM*
CHEZ CERTAINES VARIÉTÉS PHÉNOTYPIQUES
DE *CHARACIDAE*, LES « BRASS-TETRAS »**

par J. GÉRY (1) et J. DELAGE

INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, les aquariophiles et quelques zoologistes s'interrogent sur l'origine de la coloration de certains petits *Tetragonopterinae* (fam. *Characidae*) d'Amérique du Sud : parmi ces poissons, quelques espèces ont sur l'ensemble du corps des reflets argentés intenses, mêlés à quelques reflets jaunes, ce qui leur a fait donner les noms communs de tetra doré, cuivré, de bronze, etc... (en anglais : « brass-tetras »). Le fait intéressant n'est pas précisément dans cette coloration (encore qu'elle soit beaucoup plus fréquente chez les Ablettes, les Clupéides, etc... que chez les Characides) mais en ce qu'elle n'est que *phénotypique*, c'est-à-dire qu'elle ne paraît pas liée à un gène. En fait, la reproduction de ces espèces (quand elle est possible en aquarium) aboutit, en F₁, à des individus d'aspect tout à fait banal, sans éclat cuivré, et l'on s'aperçoit alors parfois qu'il s'agit d'une espèce bien connue, dont l'aspect habituel était masqué par cette coloration.

Bien entendu, bien des explications ont été proposées de ce

(1) Contribution N° 23 à l'étude des Poissons Characoïdes.

phénomène : l'un de nous (J. G.) écrivait en 1959 (p. 258) : « Les brass-tetras » dont on connaît plusieurs exemples sont généralement considérés comme des variations locales *non héréditaires*, vraisemblablement en rapport avec la nature de l'eau (?) ou de la nourriture (?). La présence de points d'interrogation montre bien qu'il n'était pas satisfait de ces explications vagues, pas plus que ne l'était AXELROD lorsqu'il écrivait (1957, p. 7) à propos du « golden-tetra » (*Hemigrammus armstrongi* Schultz et Axelrod, 1955) : « Many readers and breeders asked me for live specimens of the fish and I tried my best to supply them. No sooner did I give them the fish, that the reports started to pour in : 'What kind of fish are these ? The parents are beautiful and golden, but their offspring are just plain silver fish ?' Time after time I verified these findings myself but could never come up with the answer. Many people offered suggestions. Some said the fish required certain kind of water or food that was only available in their natural habitat. Some even suggested that the fish were dyed ! ».

Nous pensons pouvoir montrer que cette coloration est due à une réaction inédite de l'hôte à un parasite que nous avons pu mettre en évidence, et que la nature du parasite explique qu'il soit si rarement (ou jamais) transmissible en aquarium.

Nous sommes heureux de remercier ici le Dr. AXELROD qui nous a fourni le matériel, convenablement fixé, nécessaire à la vérification de l'hypothèse faite par l'un de nous (J. G.) et le laboratoire de Pathologie Comparée de l'Institut de Pathologie de la Faculté de Médecine, lequel, sous la direction du second auteur (J. D.), s'est chargé de la technique et de l'interprétation histologique. Enfin, quand l'avis d'un parasitologiste est devenu nécessaire, le Professeur Robert-Ph. DOLLFUS a bien voulu nous venir en aide avec sa gentillesse habituelle : qu'il en soit ici vivement remercié.

1. Le parasite et la réaction de l'hôte

C'est l'examen d'un échantillon assez important d'un *Hemigrammus* (1) provenant du Haut Amazone (Loreto District du

(1) Cette espèce du genre *Hemigrammus* est spécifiquement difficile à séparer de *Hemigrammus armstrongi* de Guyane anglaise, lequel à son tour, comme l'a suggéré St. WEITZMAN (comm. pers.), est très proche de *Hemigrammus rodwayi*, si pas conspécifique. Quant à la prétendue ressemblance de *H. armstrongi* avec *Cheirodon piaba* (ou *Cheirodon interruptus* ?), qui a suscité une abondante littérature aquariophilique (voir H. MEINKEN, *Aquarien und Terrarien*, Jahrgang 6, p. 107-109) elle est entièrement dénuée de fondement.

Pérou) qui est à l'origine de l'hypothèse mentionnée ci-dessus. Parmi les individus, si la plupart avaient l'éclat faiblement argenté propre aux espèces du genre, d'autres montraient des « taches » (plus ou moins nombreuses et plus ou moins confluentes) extrêmement brillantes. Sous le binoculaire, à un fort grossissement, il s'agissait d'un feutrage serré de filaments réfringents, situés sous les écailles, et ressemblant (à cette échelle) à de la laine de verre. Ce dépôt, constitué par des cristaux de *guanine*, apparaît surtout (et d'abord) sur les flancs, au voisinage de la ligne latérale, réalisant une disposition plus ou moins segmentaire, sur le pédoncule caudal, juste en avant des lobes de la caudale, sur la nuque et même à la base des nageoires impaires. Puis les taches brillantes s'agrandissent, deviennent plus ou moins confluentes et finissent par envahir tout le corps, le poisson ayant alors un très vif éclat le faisant ressembler à une ablette (voir fig. 4) : c'est ainsi que sur 27 spécimens examinés et montrant une telle coloration, 15 % n'avaient que quelques taches sur le corps, 18 % montraient une certaine confluence de ces taches, 30 % étaient très brillants, mais avec certaines régions du corps encore préservées, et 37 % étaient entièrement recouverts d'une sorte d'« enduit » de cristaux de *guanine*. A signaler que, chez les spécimens conservés dans l'alcool, l'enduit est purement argenté : en effet les pigments jaunes et rouges (caroténoïdes), qui le colorent, se sont dissous dans l'alcool. Ces pigments ne sont d'ailleurs responsables que d'une partie de la teinte générale (allant du laiton au cuivre), le facteur principal de l'éclat étant la *guanine*, dont les cristaux, par réflexion, participent peut-être aussi à la formation de la couleur.

Reste à savoir pourquoi la *guanine* se dépose ainsi en différents endroits du corps : un examen à très fort grossissement montre que ces dépôts sont toujours concentrés autour d'un petit « kyste » de 0,2 à 0,4 mm, clair au centre avec une bordure noire, situé peu profondément dans la peau ou la couche superficielle des muscles, juste sous les écailles. Ce kyste est parfois mal visible, quand il est recouvert d'une couche épaisse de *guanine* : néanmoins un compte de tous les kystes visibles montre qu'il existe une corrélation entre leur nombre et l'importance du dépôt de *guanine* : parmi les 27 individus, les 15 % avec petites taches n'ont que un à trois kystes (stade I), les 18 % avec taches plus importantes de deux à quatre kystes (stade II), les 30 % avec dépôts de *guanine* largement confluentes entre trois et six kystes (stade III) et les 37 % entièrement brillants ont de quatre à huit kystes visibles (stade IV). Il est possible que l'infestation ait été en réalité plus grande, d'abord en raison de l'impossibi-

lité de compter tous les kystes (cachés par l'épaisseur de la guanine), ensuite parce qu'un certain pourcentage de ces kystes a dû « guérir » (par libération du parasite, ou grâce aux mécanismes de défense de l'organisme). De toute façon, même si l'importance des dépôts locaux de guanine n'est pas telle qu'elle puisse, par confluence, recouvrir tout le corps de l'hôte, nous admettons, à titre d'hypothèse, qu'au delà d'un certain seuil il peut se produire une *réaction générale*. Cette réaction est, peut-être, secondaire à une atteinte de l'hypophyse qui, comme on a des raisons de le penser, joue un rôle dans le catabolisme de la guanine : l'hypophyse nous paraît en tout cas particulièrement vulnérable, la nuque étant une des premières régions à présenter de tels dépôts (sans qu'une infestation ait pu y être localisée avec certitude).

Quant à la nature du kyste, l'examen histologique a pu montrer qu'elle est *parasitaire*. D'après les rares préparations (1) (figs. 1 et 2, en bas) où la coupe passe exactement en son milieu, et où le parasite n'est pas mort, le Pr. DOLLFUS pense qu'il s'agit, vraisemblablement, de la métacercaire d'un Trématode digénétique, dont la détermination précise devra attendre un matériel plus abondant, car les espèces inter-tropicales sont nombreuses et difficiles. On sait que, dans les formes qui s'attaquent aux poissons, ceux-ci ne sont que des hôtes auxiliaires, et que le Trématode a un cycle compliqué à trois hôtes : un œuf émis par l'adulte (fixé sur l'hôte définitif) se développe dans l'eau pendant une *phase libre* en un *miracidium*, qui va être ingéré par un premier hôte intermédiaire dans lequel il se transformera en *sporocyste*, puis en *rédié* (et *rédié fille*); cet hôte intermédiaire est un mollusque d'eau douce, généralement un Gastéropode pulmoné. Puis survient une deuxième *phase libre* aquatique où la rédié, transformée en *cercaire*, va infester activement le deuxième hôte, dit auxiliaire, en l'espèce un poisson (mais plus généralement un Crustacé). Une fois fixée dans l'hôte auxiliaire, la cercaire devient une *métacercaire* qui ne pourra se développer en un *adulte* que si l'hôte auxiliaire est à son tour ingéré par l'hôte définitif, lequel est toujours un vertébré, et souvent un Mammifère. Parfois le stade rédié disparaît, et le sporocyste donne directement une cercaire, comme dans le cas de la petite Douve par exemple. De toute façon, on comprend pourquoi les parasites ne peuvent passer, en milieu clos, d'une génération à

(1) Toutes les préparations ont été faites d'après des exemplaires de *H. armstrongi* provenant de la Demerara River (Guyane anglaise), procurés par H.R. AXELROD.

l'autre : il manque en aquarium l'hôte définitif qui permettrait le développement d'un nouveau cycle. Aussi la plupart des métacercaires ainsi enkystées meurent-elles dans les tissus de l'hôte, seule restant visible la *réaction de l'organisme* qui nous intéresse ici.

2. Données histologiques

a) Le mécanisme de cette réaction va apparaître sur les préparations histologiques qui montrent des kystes du stade I envahis à des degrés divers par la guanine (sous-stades 1, 2 et 3). Tout au début de l'infestation (fig. 1, en haut), le kyste apparaît sous la forme d'une petite perle assez claire entourée d'une forte concentration de mélanine. Une très légère nappe de guanine est (mal) visible en dessous du kyste. Histologiquement (fig. 1, en bas, grossissement $\times 400$), le kyste correspondant approximativement à ce stade est situé dans les couches musculaires superficielles, juste sous la peau (celle-ci n'est jamais visible sur les préparations). Le parasite (larve métacercaire), situé au centre, est bien reconnaissable à ses noyaux plus petits que ceux de l'hôte. Il baigne dans un liquide qui se colore en rose très pâle. La paroi du kyste est formée, de dedans en dehors, par plusieurs assises de cellules épithélioïdes, mais d'origine très certainement mésenchymateuse, comme en témoigne la forte charge en pigment mélanique de la couche la plus externe. Cet aspect *épithélioïde* de la paroi d'un kyste réactionnel entourant un parasite, ou n'importe quel corps étranger, est un aspect habituel chez les poissons, et il se rencontre également dans les très nombreux kystes d'*Ichthyophonus* que l'un de nous (J. D.) a eu l'occasion d'examiner, de même qu'autour des larves de Trématodes indigènes qui sont particulièrement fréquents dans nos régions, sur la carpe en particulier. La présence de mélanine autour du kyste est également constante et s'explique de la manière suivante : lors de l'infestation, le parasite détruit de nombreuses cellules (mélanophores), dont la mélanine est libérée. Le pigment est repris par les histiocytes du tissu de granulation formé par l'hôte, en une réaction de défense, et stocké par eux. Comme se sont les premières cellules (les plus vieilles) qui en ont absorbé le plus, et que les couches épithélioïdes se forment à partir du dedans, la mélanine se trouve concentrée à la périphérie du kyste où elle forme une couche d'un noir intense, ne permettant plus de distinguer les histiocytes qui l'ont phagocytée, et d'où elle disparaîtra très lentement. La présence de mélanine n'est donc nullement caractéristique de tel ou tel parasite puisqu'elle est un phénomène général et il est quelque peu illusoire (à notre

avis) de vouloir distinguer macroscopiquement un genre de Plathelminthes d'après la coloration du kyste. Le kyste n'est qu'une réaction de l'hôte, plus ou moins indépendante de la nature de l'agent agresseur et dépendant surtout de sa vitesse de constitution (cf. SCHÄPERCLAUS, 1954, pp. 292-295).

b) La figure 2 montre, en haut et en bas, approximativement au même stade, l'apparition de la *guanine* autour du kyste. Macroscopiquement (en haut, à un plus fort grossissement que la fig. 1 correspondante), on voit parfaitement le dépôt qui tranche, par sa brillance, sur l'aspect beaucoup plus terne des écailles, et qui est centré par le kyste entièrement noir, nettement plus gros que les mélanophores visibles tout autour du dépôt de *guanine*. Histologiquement (en bas, grossissement $\times 280$), on retrouve un kyste plus arrondi (alors que le précédent était légèrement aplati). La métacercaire, ici relativement plus grande, située un peu en haut sur le cliché, est particulièrement nette, au point que l'on peut deviner sa ventouse (à droite) et l'intestin (à gauche).

Les histiocytes sont disposés en une lame épithéloïde entourée de mélanine, comme précédemment. L'élément nouveau est caractérisé par l'apparition de la *guanine* (dont quelques cristaux étaient déjà perceptibles sur la préparation précédente, mais très mal visibles sur le cliché en noir et blanc). Ce dépôt, histologiquement, consiste d'une part en un fin liseré entourant le kyste (extérieur et intérieur à la mélanine), qui tranche par sa couleur jaune clair (bien entendu difficile à voir en noir et blanc) sur celle-ci; et d'autre part en une importante infiltration des fascia intramusculaires : ceux-ci, normalement constitués d'une seule épaisseur de cellules mésenchymateuses parcourue par des vaisseaux de faible calibre, sont alors occupés par des histiocytes (noyaux arrondis) et des fibroblastes au noyau plus allongé, imprégnés par des cristaux de *guanine paraissant extracellulaires* (surtout en haut à gauche, et en bas à droite, donnant un aspect strié aux fascia épaissis). Cette surcharge de *guanine* commence à envahir progressivement les fibres musculaires elles-mêmes et provoquer des lésions de dégénérescence.

c) Le troisième sous-stade (fig. 3, en haut et en bas) correspond à un envahissement tel que le kyste lui-même est presque complètement caché sous une épaisse couche de *guanine* : l'aspect macroscopique (même grossissement que la fig. 1 correspondante) montre une tache très brillante centrée par un point noir à peine visible. Histologiquement, la photo 3 (en bas), qui correspond approximativement au même degré d'envahissement,

a été prise en lumière polarisée pour montrer la réfringence particulière de la guanine (aspect irrisé) qui tranche ainsi sur les autres structures microscopiques : le kyste (au centre du cliché), plus âgé, est plus petit et présente une paroi très épaisse dont les éléments sont surchargés de mélanine : le parasite (non représenté dans le plan de coupe) est généralement mort à ce stade et en voie de désintégration. La guanine est devenue extrêmement abondante, envahissant les muscles sous-cutanés autour du kyste et ne laissant subsister que de rares fibres musculaires isolées les unes des autres et en voie d'atrophie (en haut à gauche, et en haut à droite, du cliché). Le kyste est ainsi entièrement englobé dans la guanine et vraisemblablement soustrait au métabolisme général.

De proche en proche, il se dépose donc sous la peau du poisson, dans la couche musculaire sous-cutanée, un feutrage de cristaux de guanine, de 2 à 3/10 mm d'épaisseur en moyenne, qui finit par remplacer cette couche musculaire selon un véritable processus de *myosite dégénérative interstitielle*.

La brillance si particulière des brass-tétrras (par des phénomènes d'interférence ou de diffraction, associés à une teinte de base fournie par d'autres pigments, les caroténoïdes d'origine exogène) est donc fondamentalement d'origine *pathologique*, et résulte d'une sorte de faux *stratum argenteum* situé plus profondément que le vrai, lequel est un syncytium dermique. Nous ne savons pas pourquoi la surcharge de guanine s'arrête à cette couche sous-cutanée sans causer plus de dommages préjudiciables à la vie du poisson. D'autres questions (qui sont probablement liées à la précédente) demeurent aussi sans réponse : pourquoi certaines espèces réagissent-elles à la présence de parasites sous-cutanés par une surcharge locale de guanine, alors que d'autres n'en font pas ? (La présence de kystes est un phénomène fréquemment observé chez les poissons sauvages, tandis que les brass-tétrras ne sont jusqu'alors connus que chez certains genres, principalement *Moenkhausia* et *Hemigrammus*). Comment la guanine se dépose-t-elle et d'où proviennent de telles quantités, alors que la mélanine (dont le mécanisme du dépôt est connu) n'est jamais en quantité supérieure à celle des grains contenus dans la masse des chromatophores supposés détruits ? Enfin, question à laquelle nous avons fait allusion au début de cet article, comment une infestation même importante aboutit-elle (dans plus d'un tiers des cas) à une couche uniforme de guanine sur toute la surface du corps, sans solution de continuité ? On est obligé d'admettre que le dépôt de guanine procède alors d'un mécanisme général, même s'il est centré au début autour des

tissus de granulation (de même que la mélanine); et de faire intervenir une action endocrinienne (enzymatique ?) qui agirait sur le catabolisme des nucléoprotéines (dont les guanines — amino-acides du groupe purique — sont les produits de désintégration). Il est possible que les mélanines (autres pigments typiquement endogènes, considérés comme des substances de déchet accumulées sous la peau) jouent un rôle déclencheur ou *fixateur* dans la production exagérée de pigments puriques.

Ces questions en rejoignent d'ailleurs d'autres, plus générales, qui ont trait à l'inégalité de répartition « normale » de la guanine suivant les espèces de poissons. On sait que certaines espèces de Clupéidés, et des Cyprinidés comme l'Ablette (*Alburnus*), ont un *stratum argenteum* tel qu'on en extrait l'essence d'orient utilisé dans la fabrication des fausses perles (et, de plus en plus, des vernis à ongle). A l'opposé, certains Cyprinidés très voisins sont parfaitement ternes, et n'ont guère de guanophores que dans l'iris, le péritoine, etc...

Malgré ces questions demeurées sans réponse, nous espérons avoir amplement élucidé la cause de l'apparition, chez certains *Tetragonopterinae*, des variétés dites « *brass-tetras* », et avoir suffisamment attiré l'attention sur ce phénomène nouveau qu'est la formation d'une couche « réactionnelle » de guanine autour des kystes parasitaires. Une fois le mécanisme connu, il est aisé d'en retrouver les symptômes chez plusieurs espèces : c'est ainsi que *Hemigrammus aureus* Géry 1959 est effectivement parasité et présente des kystes très analogues à ceux des métacercariens (les types, d'ailleurs fixés en alcool, sont trop peu nombreux pour qu'un examen histologique soit possible); de même aussi le couple d'*Hemigrammus armstrongi* figuré par AXELROD (1957, pp. 6 *et seq.*) montre très nettement des « taches » de guanine et on parvient même, sur certains clichés, à distinguer le point noir du kyste au centre (cf. aussi fig. 4); de même enfin la photographie de *Moenkhausia browni* par FLETCHER (1961, p. 364) où le poisson de droite présente plusieurs très petits kystes métacercariens. Il n'est pas jusqu'aux photos très retouchées d'un « Brass Tet » (probablement *Hyphessobrycon bifasciatus* Ellis, in INNES, 1951, p. 150) et de *Hemigrammus cupreus* Eigenmann (1918, pl. 20, fig. 3) qui ne permettent de soupçonner que ces poissons sont parasités.

Une certaine analogie ne manquera pas d'apparaître à l'esprit, au terme de cet article, entre les réactions de défense d'une huître et d'un poisson devant un parasite. Ici et là le parasite est englobé dans des substances dont la diffraction est si peu différente que l'homme s'est emparé de la seconde (la

guanine) pour imiter la première (la conchyoline), améliorant ainsi un procédé utilisé depuis longtemps par le poisson pour fabriquer, en quelque sorte, une « fausse perle ».

SUMMARY

The peculiar coloration of the so-called « Brass-Tetras », which were considered by some as « individual sports », by others as depending on the nutrition or on the composition of the waters, in which the wild varieties of these fishes live, is shown by the AA. as the result of an infestation by a parasite.

The parasite, which in the case studied here (*Hemigrammus armstrongi*) is an unidentified metacercaria of a Trematode induces a two-step reaction on the part of the host : at first, a classical pseudo-cyst with histiocytes is formed, with the accumulation of melanin which does not depend on the foreign body but on the host-cells themselves (fig. 1). Then a second action, which heretofore has not been described, takes place. This consists in the inclusion of the whole cyst in a mass of guanine crystals, which invade progressively the entire sub-cutaneous layer of muscles, giving to the fish its characteristic glitter (figs. 3 and 4).

Some questions follow, concerning the mechanism of guanine's accumulation. It is suggested that, above a certain level, a generalized (hormonal ?) factor could replace the local one. Other examples of parasitism among brass-tetras (sub-family *Tetragonopterinae* of the *Characidae*) are shown, and, finally, the curious analogy with the formation of pearls is mentioned.

*Laboratoire Arago, Banyuls-sur-Mer,
et Institut d'Anatomie pathologique,
Faculté de Médecine, Strasbourg*

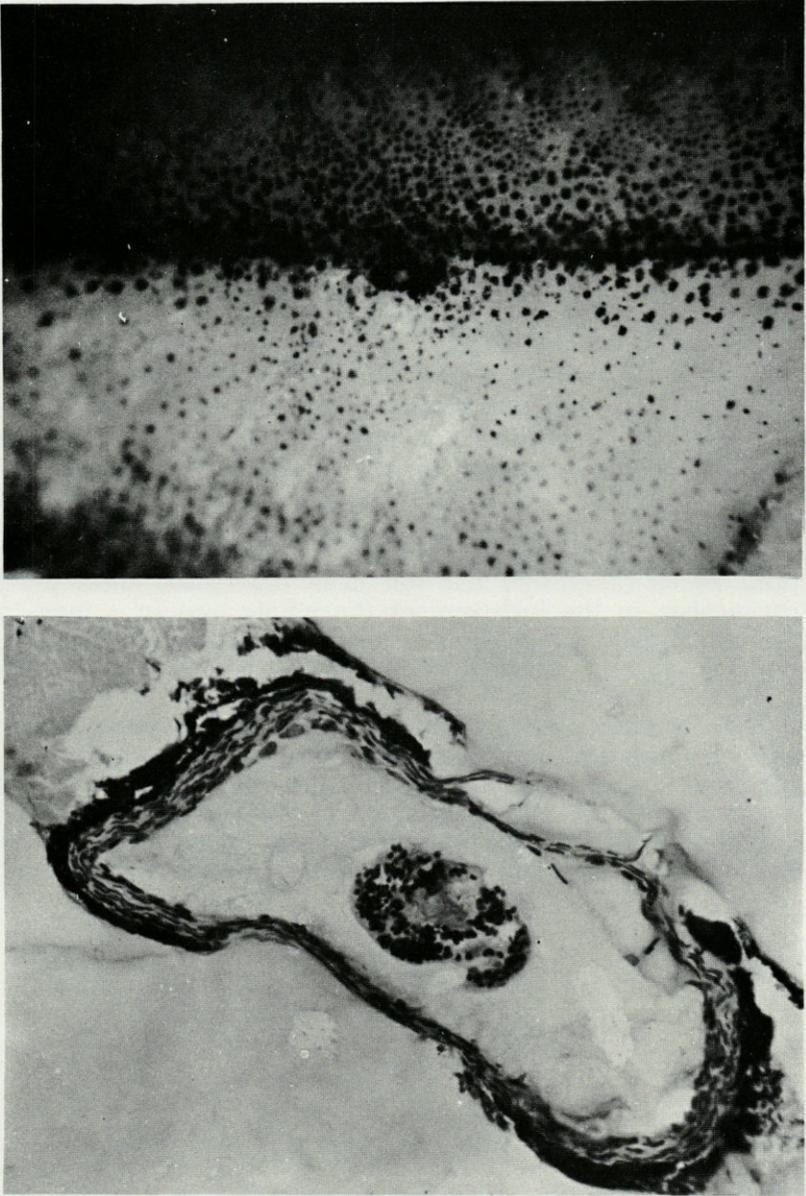


Fig. 1. — En haut, kyste parasitaire entouré d'une forte couche de mélanine, avec un très léger dépôt de guanine ($\times 10$, photo. GÉRY). En bas, microphotographie du même kyste ($\times 400$, photo. GINSBURGER); explications dans le texte.

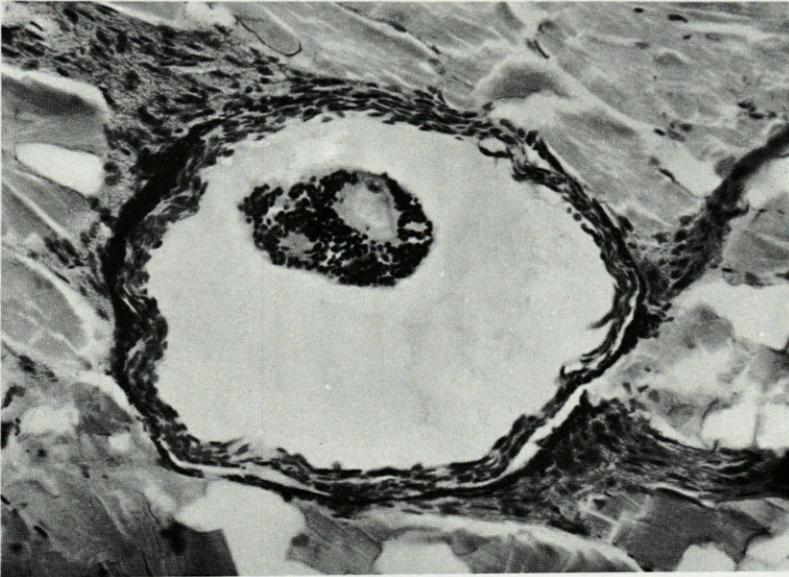
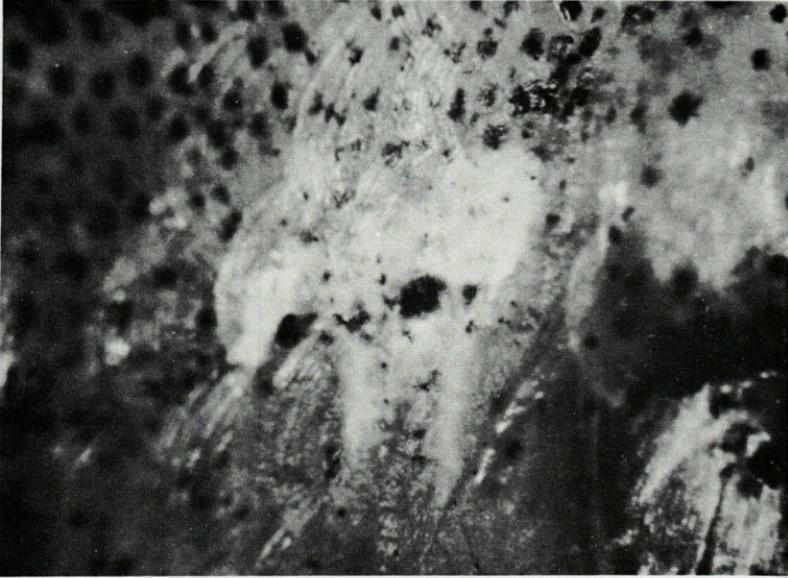


Fig. 2. — En haut, le kyste, entièrement entouré de mélanine, commence à être englobé dans la guanine ($\times 25$, photo. GÉRY). En bas, microphotographie correspondant à ce stade ($\times 280$, photo. GINSBURGER); explications dans le texte.

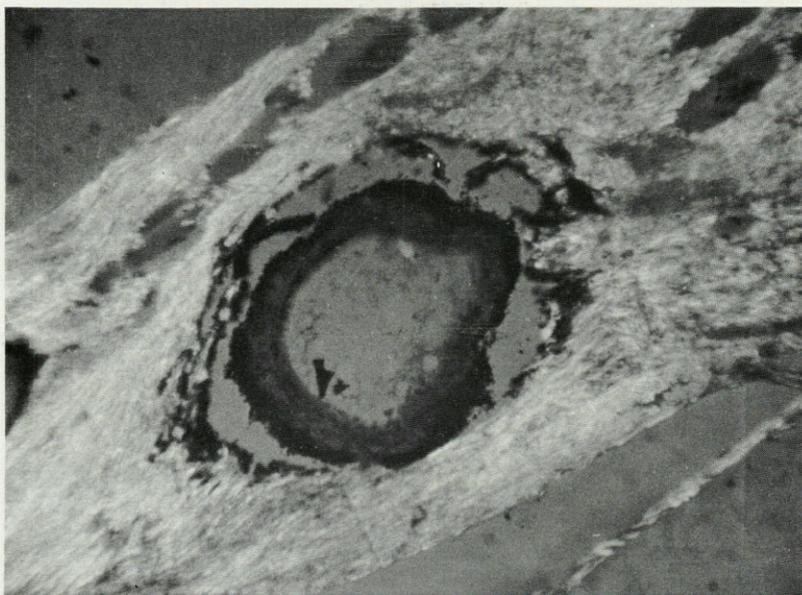
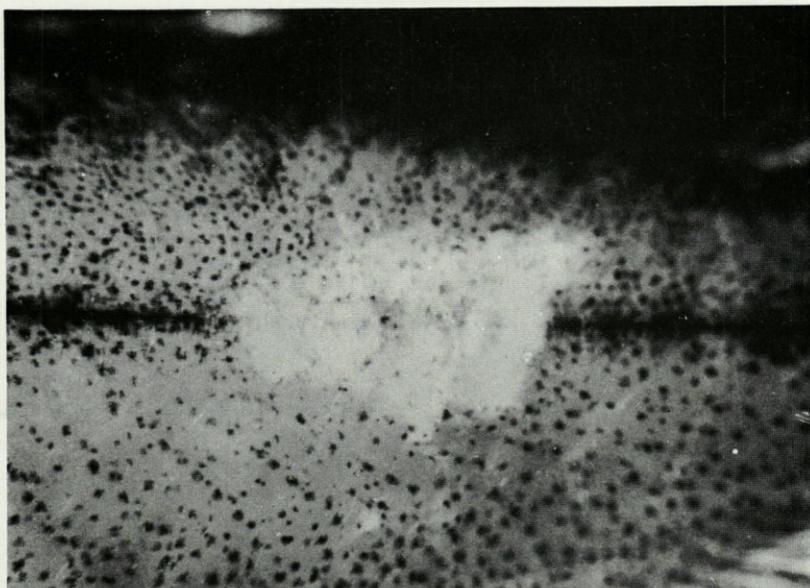


Fig. 3. — En haut : important dépôt de guanine englobant le kyste à métacercaire encore visible en son centre ($\times 10$, photo. GÉRY). En bas, microphotographie prise en lumière polarisée, correspondant au même stade ($\times 280$, photo. GINSBURGER).

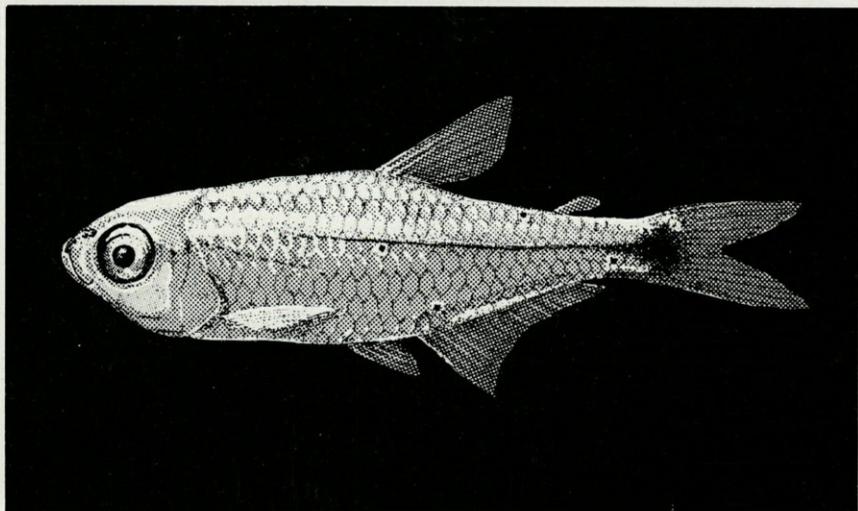


Fig. 4. — *Hemigrammus armstrongi* (dessin GÉRY, d'après un exemplaire topotype de la Demerara River, Guyane anglaise).

RÉFÉRENCES

- AXELROD, H.R., 1957. — The mystery of the golden tetra. *Tropical Fish Hobbyist*, 5 (5) : 6-8 et 28-30.
- EIGENMANN, C.H., 1918. — The American *Characidae*. *Mem. Mus. Comp. Zool.*, 43 (2) : 168-169, pl. 20, fig. 3.
- FLETCHER, A.M., 1961. — Fish from the « Lost World ». *Aqu. Journ.*, 32 (8) : 363-365.
- GÉRY, J., 1959. — Contributions à l'étude des poissons Characoïdes. (IV). Nouvelles espèces de Guyane Française du genre *Hemigrammus* (*Tetragonopterinae*) avec une liste critique des formes recensées. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon*, 28^e année (8) : 248-260.
- INNES, W.T., 1951. — Exotic Aquarium Fishes (13^e édit.). Philadelphia. (« Brass Tetras », p. 150).
- SCHÄPERCLAUS, W., 1954. — Fish-Krankheiten (3^e édit.). Berlin. (Metacercarien, p. 292-294).

RAPPORT SUR LE FONCTIONNEMENT DU LABORATOIRE ARAGO EN 1962

par G. PETIT

I. — LE « PROFESSEUR LACAZE-DUTHIERS » LA « NEREIS »

Le « Professeur Lacaze-Duthiers » a effectué d'octobre 1961 à octobre 1962 des sorties qui ont totalisé 828 heures de marche.

Pendant la même période, la « *Nereis* » a effectué 312 heures de marche (32 dragages, 21 chalutages, 15 planctons, 1 carottage et un certain nombre de sorties pour la plongée sous-marine).

II. — LES BATIMENTS

Une grande salle due à la surélévation de l'aile de la Bibliothèque, laquelle correspond à la salle de lecture, est en cours d'aménagement. Elle est destinée à recevoir diverses collections de périodiques et la totalité des tirés-à-part.

Une pièce voisine est réservée au tirage des documents et à la macrophotographie. L'étage comprend également une petite salle de projection, permettant d'examiner la riche collection

(1) Des circonstances indépendantes de notre volonté nous ont empêché de publier ce rapport dans le n° 4 (1962), où il aurait dû normalement trouver place.

de photographies sous-marines en couleurs, qui vient d'être généreusement offerte au Laboratoire par M. THÉODOR.

Il faut espérer que la construction d'une aile nouvelle qui s'étendra depuis les laboratoires les plus récents jusqu'à la route de Cerbère, sera commencée dans les premiers mois de 1963.

Si les projets concernant la transformation du grand bâtiment acquis depuis 1959 paraissent en bonne voie, ils n'ont pu être encore réalisés.

J'indiquerai plus loin (§ 5) les incidences de cet état de choses sur la fréquentation du Laboratoire.

III. — BIBLIOTHÈQUE

En 1962, la Bibliothèque a pu acquérir 197 volumes destinés à compléter les collections de 10 périodiques.

14 abonnements nouveaux ont été souscrits. 257 ouvrages ont été acquis.

IV. — LES DIVERS ASPECTS DE L'ACTIVITÉ SCIENTIFIQUE DU LABORATOIRE ARAGO

MICROFAUNE DES FONDS VASEUX DE LA MER DE BANYULS

M. J. SOYER, en vue d'une Thèse de Doctorat d'Etat, a entrepris une étude approfondie sur le sujet que nous venons d'indiquer. Une vue d'ensemble du programme envisagé comprend : l'hydrologie, l'étude des sédiments, l'étude quantitative et qualitative de la microfaune, sa répartition verticale à l'intérieur du sédiment, la répartition des différents groupes d'animaux au cours de l'année.

ETUDE DES FORMATIONS ROCHEUSES S'ÉCHELONNANT AU LARGE DES CÔTES DU ROUSSILLON

Cette étude est effectuée par M^{lle} A. VIDAL en vue d'une Thèse de Doctorat de troisième cycle. Il s'agit de recherches géologiques, sédimentologiques et faunistiques. L'examen comparé des différentes faunes liées à ces formations présente un réel intérêt.

M^{lle} VIDAL avait auparavant vainement recherché le fond rocheux des Ouillats, signalé par PRUVOT, aujourd'hui enfoui sous les sédiments. Une note à ce sujet est à l'impression dans *Vie et Milieu*.

EAUX SAUMATRES

M. R. MIZOULE a continué l'étude du matériel, plancton notamment, recueilli au cours d'investigations sur l'étang de Sigean (1961-1962).

FAUNE INTERSTITIELLE

M^{me} N. COINEAU a continué ses recherches sur la biologie des Isopodes interstitiels littoraux et continentaux. Elle a décrit un nouvel Amphipode (*Salentinella delamarei*), provenant de la nappe phréatique du Tech, qui lui a fourni également un petit Isopode nouveau (*Microcharon angelieri*).

SPONGIAIRES

M. J. PARIS a continué l'histologie des Axinelles et d'autres Spongiaires. Il a commencé un travail sur la régénération des Eponges calcaires et d'un Octocoralliaire (*Veretillum cynomorium*).

ECHINODERMES

M. A. GUILLE achève une Thèse de Doctorat de troisième cycle intitulée : Contribution à l'étude de l'écologie et de la systématique d'*Ophiothrix quinquemaculata* (D. Ch.). L'étude des populations grégaires de cette espèce dans la mer de Banyuls a particulièrement retenu son attention; de même, le polymorphisme et le polychromisme des adultes.

POLYCHÈTES

MM. L. LAUBIER et J. PARIS ont terminé l'inventaire de la faune des Annélides Polychètes de Banyuls, dans le cadre de la Faune des Pyrénées-Orientales (fasc. 4, 1962).

OPISTHOBRANCHES

M. H.-R. HAEFELFINGER (Université de Bâle) a poursuivi ses recherches sur l'écologie et la biologie des Opisthobranches et les résultats obtenus par lui depuis plusieurs années vont le conduire à une Thèse de Doctorat ès-Sciences.

RECHERCHES SUR LES CÉPHALOPODES

M^{me} K. MANGOLD, après sa Thèse de Doctorat ès-Sciences (1961) et l'achèvement des travaux indiqués dans mon rapport précédent, oriente désormais ses recherches vers les facteurs écologiques et physiologiques qui conditionnent la biologie des Céphalopodes. De telles recherches comprennent donc l'étude du système neuro-endocrinien et celle des facteurs qui provoquent des changements dans le fonctionnement de ce système.

Elle effectue ces recherches en collaboration avec une physiologiste, désormais permanente au Laboratoire, M^{lle} A. BONICHON, Dr. ès-Sciences, Chargée de Recherches au C.N.R.S.

D'autre part, en collaboration avec M. P. FIORONI, de l'Université de Bâle, M^{me} MANGOLD a continué ses recherches embryologiques sur divers Céphalopodes.

M. P. FIORONI a d'autre part effectué un important travail sur les « dessins » dûs au chromatophores, étudiés par lui chez divers embryons de Céphalopodes. Ce travail sera publié dans un supplément de *Vie et Milieu*.

CRUSTACÉS

M. R. MIZOULE poursuit, en vue d'une Thèse de Doctorat, des recherches sur la biologie des Pénéidés (*Aristeus*, *Aristeomorpha*, *Parapenaeus*, *Solenocera*...). Les mues, la métamorphose, la croissance, la migration sont particulièrement envisagées.

ICHTHYOLOGIE

M. H. BOUTIÈRE a repris sa Thèse sur les Poissons Gobiidés de la Méditerranée (systématique et écologie).

Il a poursuivi ses recherches sur les Scorpaenidés méditer-

ranéens en s'attachant notamment à l'étude de la croissance comparée d'*Helicolenus dactylopterus* en Méditerranée et sur la côte atlantique du Maroc. Ajoutons que M. H. BOUTIÈRE étudie les récoltes zoologiques faites dans le Sahara central de 1960 à 1962, alors qu'il y effectuait son service militaire.

Le Dr. GÉRY, Chargé de Recherches, a continué ses études sur les poissons Characoïdes d'Amérique du Sud. Ses études comprennent notamment la révision des Serrasalminés (Piranhas), l'anatomie comparée de l'appareil protracteur buccal des *Bivibranchia*, l'ontogénie des mâchoires chez les *Curimatinae*. Il procède également à une nouvelle définition de la famille nouvelle des *Crenuchidae*. Le Dr. GÉRY a publié des notes de nomenclature et taxinomie. Il prépare enfin deux grandes monographies : Characoïdes de l'Amazonie supérieure (expédition Dr. LÜLING, Bonn). — Characoïdes des Guyanes. Cette dernière monographie fait l'objet d'une Thèse de Doctorat ès Sciences.

M. VU-TÂN-TUÉ prépare une Thèse de Doctorat (3^e cycle) sur la systématique, l'écologie et la répartition bathymétrique des poissons de la mer de Banyuls (étude biométrique, croissance, état des glandes génitales, lieux de ponte, contenu stomacal...).

M. VU-TÂN-TUÉ s'est livré à une étude très intéressante sur la denture de *Boops boops*. Chez cette espèce, contrairement à ce qui est affirmé par les auteurs, il a constaté, dans 45 % des cas, la présence de dents vomériennes en rapport avec la présence d'un Isopode phorétique du genre *Meinertia*.

Avec le Dr. GÉRY, il a participé à la définition du genre *Cynopotamus* et genres voisins.

HISTOLOGIE - CYTOLOGIE

Le Dr. BOGORAZE fait actuellement une étude du système nerveux transitoire du Têtard d'Amphibiens Anoures. Par des techniques à l'argent, il a réussi de très bonnes imprégnations qui lui permettent une étude complète des différents centres nerveux, ainsi que leur relation avec un système du type neuronal transitoire intramédullaire.

Il a déjà réuni une iconographie importante (photographies et dessins) sur les différents aspects de la question étudiée par lui, en relation avec la métamorphose du système nerveux des Amphibiens Anoures.

M^{lle} M.-O. GOBILLARD, Stagiaire de Recherches au C.N.R.S.,

a poursuivi ses recherches sur la pleuromitose chez les Flagellés des Termites et chez les Périidiniens parasites de Copépodes marins.

PHYSIOLOGIE

En dehors des recherches effectuées au Laboratoire par le Professeur de CECCATY (Lyon) et ses collaborateurs, notamment M. BUISSON, je note tout spécialement le stage du Laboratoire de Physiologie comparée de l'Université d'Utrecht (voir paragraphe V de ce rapport).

MICROBIOLOGIE MARINE

Le Dr. LAGARDE a poursuivi des recherches sur les Bactéries des gisements d'hydrocarbure profonds et leur identification.

Il a pu mettre en évidence l'existence d'un phénomène de corrosion dans une installation de stockage d'hydrocarbures. L'action de divers bactéricides bactériostatiques à l'égard de souches de *Desulfovibrio desulfuricans*, isolées du circuit corrodé, est en cours d'étude.

D'autre part, l'étude physicochimique et bactériologique des eaux et des vases de l'étang de Sigean (Aude), commencée en 1961, a été poursuivie. Il s'agit en particulier de définir les caractères et les conditions générales du biotope en vue d'une reconversion éventuelle de cette étendue saumâtre.

En dehors des recherches de caractère appliqué, sommairement indiquées ci-dessus, le Dr. LAGARDE a poursuivi, en vue d'une Thèse de Doctorat, ses investigations sur les Bactéries du cycle de l'azote (Bactéries dénitrificatrices vraies et Bactéries réductrices des nitrates). Des appréciations qualitatives et quantitatives des phénomènes ont déjà été faites dans divers biotopes marins ou saumâtres. Ce sont actuellement les propriétés physiologiques et métaboliques en culture pure des Bactéries isolées lors des prospections, qui retiennent l'attention du Dr. LAGARDE.

Deux Thèses de microbiologie marine (3^e cycle) sont en cours au Laboratoire Arago, sous la direction du Dr LAGARDE.

M^{lle} F. CHAKROUN étudie les microflores normales et accidentelles de Mollusques méditerranéens.

M. G. CAHET procède à des recherches écologiques sur la réduction bactérienne des composés soufrés en milieu saumâtre.

D'autre part, le Dr. LAGARDE contrôle la thèse de 3^e cycle de M^{lle} S. CHANROUX (Station biologique de Roscoff). Il s'agit de l'étude écologique de dénitrification bactérienne dans l'Aber de Roscoff.

Enfin, deux chercheurs ont travaillé au Laboratoire de microbiologie marine : M^{lle} CASTELVI, de l'Institut de recherches des Pêches de Barcelone. Le stage effectué par elle était destiné à préparer les recherches qu'elle effectuera en 1963, sur la fixation bactérienne de l'azote dans un biotope saumâtre.

M^{lle} C. PIGAGLIO, Professeur de Sciences naturelles, a effectué un stage de microbiologie générale.

AUTRES RECHERCHES DE BIOLOGIE MARINE

Parmi les recherches entreprises par des biologistes ayant fait des séjours importants au Laboratoire Arago, nous signalerons les sujets suivants : Copépodes parasites d'Octocoralliaires (Y. BOULIGAND); Copépodes parasites (J. STOCK); Parasites monogénétiques des Poissons (KEARN et PALING); Ciliés des eaux saumâtres (G. DIETZ); Foraminifères (A. NORVANG); Spongiaires (O. TUZET); Echinodermes (G. CHERBONNIER); Turbellariés et Gnathostomides (P. AX); physiologie des Coelentérés (B. BUISSON); physiologie des Pennatules (G. FRAENKEL); sexualité des Poissons (R. REINBOTH); glandes endocrines des Poissons (D. OHM); osmorégulation chez les larves d'Insectes d'eaux sur-salées (NEMENZ); physiologie du développement des œufs d'oursins (BACKSTROM); phénomènes cycliques dans les premiers stades du développement des œufs d'oursins (W. GEILENKIRCHEN); fertilisine (B. RYBAK); fixation d'œufs et d'embryons pour examen au microscope électronique (S. NASS); embryologie des Prosobranches (A. PORTMANN); éthologie des Poissons (E. ABEL); éthologie des Crustacés Décapodes (A. BURGI); oxygène dissous des eaux interstitielles (A. BRAFIELD); champignons marins (H. KOHLMAYER).

BIOLOGIE ET ÉCOLOGIE TERRESTRES

M. L.-Ph. KNOEPFFLER a commencé des recherches sur l'écologie et l'éthologie de *Psammodromus hispanicus edwardsianus* (*Sauria Lacertilia*), espèce spéciale aux sables littoraux du Sud de la France et de la Péninsule ibérique. Le programme de ces recherches comprend le cycle reproducteur, la croissance maldérale et staturale, l'activité et le rythme nyctéméral, etc...

M. KNOEPFFLER a entrepris l'étude de la collection des Reptiles et Amphibiens de l'Expédition v. MAYDELL, 1955-1956 (Indes-Himalaya). Il a continué d'autre part ses investigations sur la faune herpétologique du Roussillon et de la Provence.

M. J. TRAVÉ a brillamment soutenu sa Thèse de Doctorat ès-Sciences : écologie et biologie des Oribates saxicoles et arboricoles. Il continue ses recherches sur le même groupe, orientées, cette fois, dans le sens éthologique et physiologique.

M. Y. COINEAU, poursuivant ses recherches sur les *Caeculidae*, a étudié le développement d'*Allocaeculus catalanus* (Prostigmaté libre du sol).

Il a entrepris l'étude écologique des sols squelettiques et, en collaboration avec M. JACQUEMART (Bruxelles), il a continué ses investigations sur les Trichoptères des Albères (écologie et systématique).

L'étude des xylophages de la hêtraie de la Massane a été continuée par M. R. DAJOZ.

CENTRE MÉDITERRANÉEN D'ÉCOLOGIE TERRESTRE

La seconde réunion du Comité technique s'est réunie au début de mai 1962, sous la Présidence du Professeur Roger HEIM, Membre de l'Institut, Directeur du Muséum d'Histoire Naturelle. Nous donnons ci-après un bref compte rendu de cette réunion.

Étaient présents : M. le Professeur DRACH, Directeur-adjoint du Centre National de la Recherche Scientifique; M. le Professeur GAUSSEN, Faculté des Sciences de Toulouse; M. le Professeur HARANT, Directeur du Jardin des Plantes de Montpellier; M. le Professeur LASCOMBE, Institut National Agricole de Toulouse; M. le Professeur LEDOUX, Faculté des Sciences de Toulouse; M. le Professeur G. PETIT, Directeur du Laboratoire Arago; M. FOEX, Maître de Recherches au C.N.R.S., Sous-Directeur du Laboratoire de l'Énergie solaire à Mont-Louis; M. J. PARIS, Sous-Directeur du Laboratoire Arago; M. PONS, Chef de Travaux à la Faculté des Sciences de Montpellier, représentant M. le Professeur EMBERGER; M. H. LOMONT, Collaborateur Technique (Biologiste) au Centre National de la Recherche Scientifique.

Excusés : MM. les Professeurs GRASSÉ (Paris), VANDEL (Toulouse), EMBERGER (Montpellier).

Pour les personnes qui n'assistaient pas à la réunion de l'année précédente, M. G. PETIT fait un rapide historique de la création du Centre d'Écologie. Si les choses sont allées à petits pas, il a le plaisir d'annoncer que les crédits nécessaires à l'aménagement de cinq laboratoires et logements pour les chercheurs, viennent d'être obtenus, grâce à l'intervention de M. le Doyen ZAMANSKY.

Se faisant l'interprète d'un vœu du Bureau d'Aide Sociale de Banyuls-sur-Mer, qui a concédé le terrain, M. PETIT reprend l'idée de la création, en dehors des zones réservées à l'expérimentation écologique, d'un jardin

d'acclimatation de plantes exotiques où pourraient figurer quelques animaux très représentatifs des pays d'origine des plantes importées (Amérique du Sud, Afrique du Sud, Australie).

M. FOEX, Sous-Directeur du Laboratoire de l'Energie Solaire, à Mont-Louis, présente un rapport sur le fonctionnement de la serre expérimentale visitée avant le début de la séance (1).

Cette installation utilise de petites quantités d'eau saumâtre ou magnésienne. L'eau distillée recueillie par condensation, sert à irriguer des cultures au sol. La distillation y est suffisante, mais la lumière paraît insuffisante. L'éclairage actuel permet surtout le développement de plantes feuillues. L'évaporation est de 4 litres d'eau par m² de bassin. On arrive à recueillir 80 % de l'eau distillée.

M. FOEX se propose de construire une autre serre, plus grande et surtout plus haute, dans laquelle la masse thermique plus importante, pourrait limiter les écarts de température. Plus tard, une serre de même type pourrait être implantée à Touggourt.

M. HEIM demande le prix de revient de la serre actuelle et pense qu'il y aurait peut-être intérêt à construire des serres expérimentales plus petites. Selon M. FOEX, le prix de revient de la serre expérimentale est de l'ordre de 5 000 F.

M. LASCOMBES pense qu'il faudrait employer le procédé de la sub-irrigation. Il se mettra en rapport avec M. FOEX à ce sujet.

MM. HEIM et GAUSSEN suggèrent de rattacher au Centre d'Ecologie terrestre du Mas Reig, la réserve de la Massane (commune d'Argelès) également placée sous l'égide du Laboratoire Arago.

M. GAUSSEN souhaiterait voir installée une station intermédiaire. M. PETIT propose de demander à la Mairie l'autorisation d'installer un poste au lieu dit « Les Cuves » situé sur la route des crêtes, et, plus haut, aux anciennes casernes. Cela suppose la présence d'une camionnette affectée au Centre.

La séance est levée à 12 h. 30. Elle est reprise à 15 h. au Laboratoire Arago.

Reprenant l'idée d'une liaison étroite entre le Centre d'Ecologie terrestre et la Réserve de la Massane, le Professeur HEIM demande où est l'inventaire botanique et zoologique de la Réserve.

M. PETIT signale que des Lichens ont été étudiés par M. CLAUZADE, que M. TRAVÉ a consacré plusieurs notes sur les Oribates, que M. DAJÓZ, à l'occasion de sa Thèse en préparation sur les Xylophages de la Hêtraie, a réalisé un inventaire important de la faune entomologique, que M. NICOLAU-GUILLAUMET a présenté un Diplôme d'Etudes Supérieures sur des recherches écologiques dans la rivière de la Massane. Cependant M. PETIT souhaiterait que cet inventaire soit accéléré et étendu.

Le Professeur HEIM propose un plan de travail, adopté à l'unanimité et qui s'établit ainsi : M. le Professeur HEIM se chargera de l'inventaire mycologique, M. le Professeur EMBERGER de l'inventaire botanique, M. DUPIAS (Toulouse) étudiera les rouilles, M^{me} JOVET, les Bryophytes, M. KUHNER, les Hyménomycètes, M. LOMONT, les Oiseaux, M. KNOEPFFLER, les Reptiles et les Batraciens, M. SAINT GIRONS, les Vertébrés et les micromammifères, M. LEDOUX, les Fourmis.

M. LASCOMBE veut bien se charger d'étudier le métabolisme des plantes aux diverses périodes de l'année.

L'expérimentation écologique dont parlait M. PETIT est à nouveau évoquée. Le Comité propose d'envisager dès maintenant l'introduction

(1) Depuis la réunion, M. FOEX a écrit sur la question un rapport très complet, avec illustrations et bibliographie.

de plantes à coussinets. Il apparaît à tous les membres présents qu'il s'agirait là d'une étude très intéressante. M. HEIM fait espérer le concours du Muséum pour l'obtention des plantes, et indique qu'il faudrait notamment essayer d'acclimater des plantes de Nouvelle-Zélande.

M. PETIT remercie tous les membres présents et surtout M. le Professeur HEIM, de leur apport très constructif, ce qui constitue pour lui et ses collaborateurs, un très grand encouragement.

V. — FRÉQUENTATION DU LABORATOIRE ARAGO

L'année 1962 marque, pour le Laboratoire Arago, l'indice d'un virage dont les conséquences auront leur plein effet en 1963.

Il s'agit de l'augmentation du nombre des chercheurs permanents qui occupent ainsi des stalles et des chambres. C'est là une tendance normale et même souhaitable pour un Institut comme le nôtre. Mais je l'ai dit (§ II), rien n'a été fait pour que ce Laboratoire puisse demeurer sur sa lancée et conserver le caractère de centre international d'enseignement et de recherche qu'il était devenu, par le nombre des chercheurs non permanents et des stages étrangers qui s'y effectuaient. Ainsi, la fréquentation qui fléchit en 1962, va s'amenuiser encore en 1963. Nous le déplorons; mais nous n'en portons point la responsabilité.

A. — CHERCHEURS

1° Répartition par nationalité :

Allemagne : 6; Angleterre : 6; Autriche : 3; Belgique : 3; Danemark : 1; Espagne : 3; Etats-Unis : 2; France : 74; Iran : 1; Israël : 1; Pays-Bas : 2; Roumanie : 1; Suède : 8; Suisse : 7.

2° Répartition par disciplines :

Algologie : 9; Biochimie : 6; Biologie et écologie marines : 19; Biologie et écologie terrestres : 7; Botanique : 4; Embryologie : 8; Entomologie : 1; Ethologie : 4; Histologie : 4; Microbiologie : 3; Parasitologie : 9; Physiologie : 13; Sédimentologie et géologie : 8; Zoologie (faunistique générale) : 23.

B. — ENSEIGNEMENT

Dans mon rapport de 1961, je déplorais les nombreux refus auxquels j'avais dû me résoudre vis-à-vis de candidatures d'étudiants français et de stages d'étudiants étrangers. Ces refus

s'accroissent cette année et le grand immeuble acquis depuis 1959 sert toujours de garage et de remise.

Voici cependant la liste des stages français et étrangers organisés par le Laboratoire Arago, en 1962 :

France. — Stage de Pâques, vingt-huit étudiants. Premier et deuxième stages d'été (juillet-août), trente quatre étudiants. Stage technique de plongée sous-marine, quinze étudiants.

Stage d'entomologie (troisième cycle, Toulouse), onze étudiants. Stage d'Océanographie biologique (troisième cycle, Paris), dix-sept étudiants. Stage de biologie végétale marine (troisième cycle, Paris), onze étudiants.

Pour la première fois, M. le Professeur FELDMANN a dirigé un stage d'Algologie (deuxième cycle). Les candidats étaient nombreux. Faute de place, nous n'avons pu accepter que vingt-deux étudiants.

Allemagne. — Stage de l'Université de Darmstadt, trente-cinq étudiants. Stage de l'Université libre de Berlin, vingt-et-un étudiants.

Suisse. — Stage de l'Université de Bâle, onze étudiants.

Comme je l'ai indiqué ci-dessus, 13 étudiants du Laboratoire de Physiologie Comparée de l'Université d'Utrecht, sous la direction du Docteur J. RINGELBERG, ont séjourné au Laboratoire du 18 septembre au 20 octobre 1962. Nous avons attaché un grand intérêt à un tel stage qui diffère des stages d'Enseignement habituels, en ce sens que les participants effectuent des recherches sous la direction des responsables, selon un programme établi d'avance et parfaitement défini.

Un rapport sur les investigations effectuées et les résultats obtenus a été rédigé : 23 pages, figures dans le texte et résumés en français.

Voici l'énoncé des investigations effectuées.

J. RINGELBERG, J.F.W. NUBOER en J. v. d. BERCKEN : De oriëntatie van de strandvlooiën *Talitrus saltator* (Montagu) en *Orchestia montagui* (Audouin). — H.D.J. DEN DAAS : Zonneoriëntatie van *Ligia mediterranea*. — H. OOSTING en E.A. OTTEVANGER : Laboratoriumproeven over de optische oriëntatie van *Ligia mediterranea*. — J.E. DE FOUW en C.J. ff. SLOET : Het behuizingsvraagstuk van *Clibanarius misanthropus*. — J.H. REUTER : De voorkeur van heremietkreeften, *Eupagurus prideauxi* Leach, *Eupagurus excavatus* Herbst, *Paguristes oculatus* Fabricius, *Pagurus arrosor* Herbst, voor bepaalde soorten slakkehuizen. — S.J. DE GROOT : Einige proeven om

de « sign-stimuli » bij het huiszoeken van *Eupagurus pri-
deauxi* (Paguridae; Crustacea) na ta gaan.

VI. — PERSONNEL

M. J. PARIS a été nommé Maître-Assistant.

M. H. BOUTIÈRE, Assistant, a repris ses fonctions après son service militaire.

MM. A. GUILLE et G. CAHET ont été nommés Assistants titulaires.

M^{me} K. MANGOLD a été chargée de mission (C.N.R.S.) au Laboratoire de biologie marine de Den Helder (Pays-Bas).

M. L.-Ph. KNOEPFFLER a été chargé de mission (C.N.R.S.) en Israël, en vue de l'étude de la faune herpétologique et en particulier de *Discoglossus nigriventer*.

Le Dr. LAGARDE a été chargé de mission en Nouvelle Calédonie (mission Singer-Polignac).

M. R. MIZOULE a participé à la croisière de « La Calypso » sur les côtes du Brésil (1961-1962).

M^{lle} A. BONICHON, Chargée de Recherches au C.N.R.S., le Dr. BOGORAZE, Chargé de Recherches au C.N.R.S., le Dr. GÉRY, Chargé de Recherches au C.N.R.S., sont devenus chercheurs permanents au Laboratoire Arago.

DOCUMENTS FAUNISTIQUES
ET ÉCOLOGIQUES

CONFIRMATION DE LA PRÉSENCE EN FRANCE
D'UNE LABOULBÉNIALE
PARASITE DES BLATTES ORIENTALES :
HERPOMYCES PERIPLANETAE THAXTER

Nous confirmons la présence en France de *Herpomyces periplanetae* Thaxter (Laboulb.) ⁽¹⁾ signalé sans certitude par F. PICARD (1913) chez un individu de *Blatta orientalis* L. en collection au Laboratoire d'Evolution des Etres organisés, « sans localité bien précise, mais certainement originaire d'Europe et vraisemblablement de France ».

Cette espèce, certainement cosmopolite, était déjà connue d'Espagne (R. THAXTER, 1931) et de Belgique (A. COLLART, 1947), et depuis plus longtemps d'Afrique du Nord (R.G. FRAGOSO, 1916; R. MAIRE, 1916).

Chez les Blattes en élevage dans des vivariums dont les

(1) Travail du Laboratoire d'Histoire naturelle et Parasitologie médicale de la Faculté de médecine de Montpellier (Pr. H. HARANT).

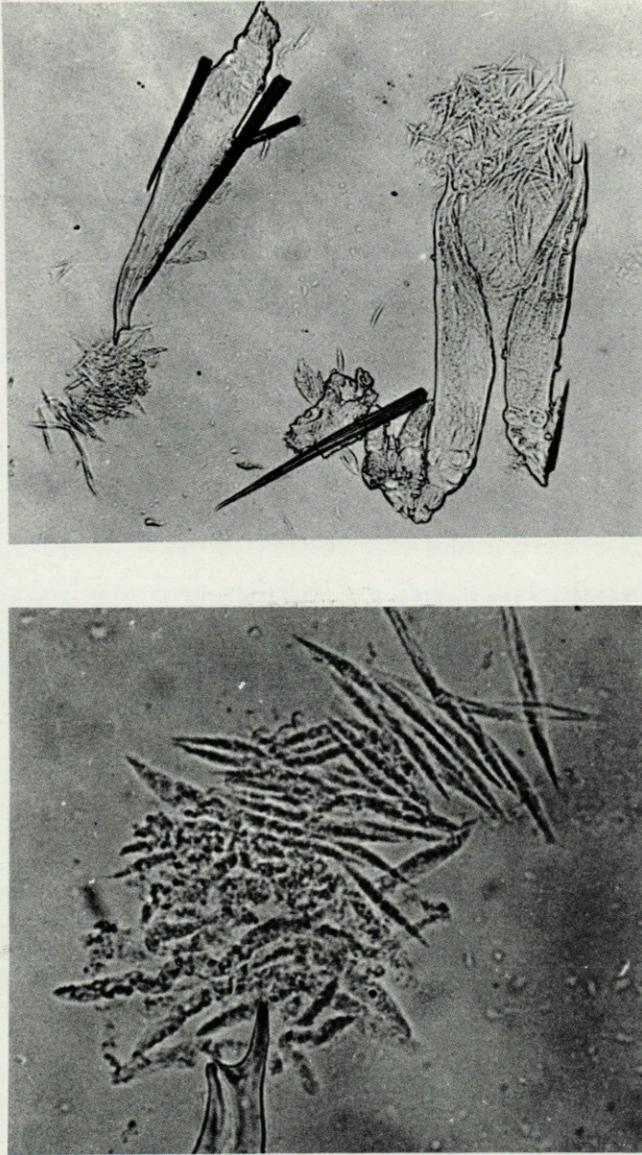


Fig. 1. — *Herpomyces periplanetae* Thaxter. En haut, trois individus ♀ ♀ en train d'éliminer leurs spores. On voit parfaitement, à droite, le mode d'insertion du pied sur la soie antennaire de l'hôte. En bas, détail de l'expulsion des spores hors du périthèce.

milieux sont particulièrement humidifiés, le parasite semble se transmettre avec une grande facilité comme l'ont déjà signalé A.G. RICHARDS et M.N. SMITH (1954); l'infestation devient très importante au niveau des antennes, peut-être favorisée par les contacts antennaires. Les Blattes en élevage ne sont pas affectées dans leur comportement, même quand leurs antennes fragilisées se brisent, fait établi par L.M. ROTH et E.R. WILLIS (1960).

H. periplanetae Thaxter a été trouvé dans plusieurs lots de *B. orientalis* L. provenant de Mirepoix (Ariège) et de Montpellier (Hérault).

D.T. JARRY et D.M. JARRY

BIBLIOGRAPHIE

- COLLART, A., 1947. — A la découverte des Laboulbéniales. *Bull. Ann. Soc. Entomol. Belgique*, **83**: 21-35.
- FRAGOSO, R.G., 1916. — Micromicetos varios de España y de Cerdaña. *Trab. Mus. Nac. Cienc. Natur.*, Madrid, **9**: 40-46.
- LEPESME, P., 1941. — Catalogue des Laboulbéniales de la collection François Picard. *Bull. Mus.*, sér. 2, **13** (5) : 481-488.
- MAIRE, R., 1916. — Deuxième contribution à l'étude des Laboulbéniales d'Afrique du Nord. *Bull. Univ. Alger*, 1-39.
- RICHARDS, A.G. et SMITH, M.N., 1954. — Infection of Cockroaches with *Herpomycetes* (Laboulbeniales). III. Experimental studies on host specificity. *Bot. Gaz.*, **116**: 195-198.
- ROTH, L.M. et WILLIS, E.R., 1960. — The biotic associations of Cockroaches. *Smiths. Inst.*, publ. n° 4422, 470 pages, 37 pl.
- THAXTER, R., 1931. — Contribution towards a monograph of the *Laboulbeniaceae*. Part. V. *Mem. Amer. Acad. Arts. Sci.*, **16**: 1-435.

PRÉSENCE DE *MICROCHARON ANGELIERI* DANS LA NAPPE PHRÉATIQUE DE LA BAILLAURIE BANYULS-SUR-MER

Dans le cadre de leur travail à propos de l'« étude hydrogéologique des Albères maritimes », les géologues MOURGUE, ZWEIGER et BLANC effectuèrent, au début de l'année 1962 (en jan-

vier et février), une série de pompes à l'aide d'une motopompe, dans les puits creusés dans la nappe phréatique de la Baillaurie, petit cours d'eau se jetant dans la baie de Banyuls-sur-Mer. Un long filet confectionné spécialement, disposé sur un trépied, permettait de filtrer toute l'eau évacuée pendant plusieurs heures consécutives.

La faune interstitielle ainsi recueillie, pauvre par rapport à celle de la nappe phréatique du Tech par exemple, ne se compose que de quelques individus : Vers, Ostracodes, Copépodes (les plus abondants), Isopodes, *Niphargus*, Bathynelles.

Parmi les Isopodes, il est intéressant de noter la présence de *Microcharon angelieri* N. Coineau, récemment décrit de la nappe phréatique du Tech. D'autre part, le genre *Bathynella* n'avait pas encore été signalé de la Baillaurie.

M. angelieri vit dans le cours souterrain de la Baillaurie, aussi bien à 3 km de la mer, puits B 46, rive droite, où l'eau est toujours douce, qu'à proximité de l'embouchure, puits B 133, rive droite, à 500 mètres de la mer, et puits B 111, dans la ville, à 200 mètres de la mer environ. Or, ces deux derniers puits sont directement en relation avec « l'inféroflux » et à la suite de la saison sèche, lorsque la nappe phréatique devient particulièrement basse, ils sont « pollués » par les ions en provenance de l'eau de mer; le taux de chlorure de sodium peut s'élever et l'eau devient légèrement saumâtre (1). *M. angelieri* peut donc vivre indifféremment dans les eaux souterraines douces et en eau légèrement saumâtre. Il en est de même pour la Bathynelle présente dans le puits B 111.

Il semble donc que *Microcharon angelieri* puisse supporter les variations de salinité et même se reproduire en milieu légèrement saumâtre, puisqu'un jeune stade, de sexe encore indéterminé, a été récolté dans le puits B 111, le plus fortement « pollué » par le chlorure de sodium.

M. angelieri est peut-être encore l'un de ces représentants de la faune thalassifuge, d'origine méditerranéenne, venue conquérir les eaux souterraines continentales.

(1) Je remercie bien vivement M^{lle} N. ZVEIGER et M. MOURGUE qui ont procédé à la récolte du matériel et qui m'ont communiqué leurs différentes mesures effectuées dans les puits B 133, B 46 et B 111.

BIBLIOGRAPHIE

- CHAPPUIS, P.-A. et DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl., 1954. — Les Isopodes psammiques de la Méditerranée, in : Recherches sur les Crustacés souterrains. *Biospeologia*, 74. *Arch. Zool. exp. gén.*, 91 : 103-138.
- COINEAU, N., 1962. — Contribution à l'étude des Isopodes aquatiques. I. *Microcharon marinus* Chappuis et Delamare Deboutteville et *Microcharon angelieri* n. sp. (*Microparasellidae*). *Vie et Milieu*, 13 (4).
- DELAMARE DEBOUTTEVILLE, Cl., 1960. — Biologie des eaux souterraines littorales et continentales. Suppl. à *Vie et Milieu*, 9 : 1-740, 254 figs., 1 carte hors-texte.
- KARAMAN, S., 1954. — Weitere Beiträge zur Kenntnis der Microparaselliden Mazedoniens, das Genus *Microcharon* Karaman. *Fragmenta Balcanica*, Skoplje, 1 (12) : 107-114.
-

ANALYSES D'OUVRAGES

G. PETIT. — Splendeurs de la Faune Marine, 1 vol., 317 p., 32 pls. h.-t. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel et Paris, 1962.

Sous ce titre, le Professeur G. PETIT nous livre un véritable précis de Zoologie marine où sont signalées les dernières découvertes faites dans cette discipline, admirablement illustré par les planches en couleurs de P.A. ROBERT et les dessins de H. DANOY.

Une introduction nous rappelle les grands problèmes soulevés par l'origine de notre planète et l'apparition de la vie à sa surface.

Les chapitres suivants évoquent les conditions physiques et chimiques du milieu marin, les grandes divisions océaniques à propos desquelles l'auteur rappelle les étapes de la Biologie marine, jalonnées par les noms de Victor AUDOUIN, Henri MILNE EDWARDS, H. de LACAZE DUTHIERS, de QATREFAGES, Carl VOGT, etc., pionniers souvent injustement méconnus aujourd'hui.

Un chapitre spécial est consacré au plancton, cette « manne » océanique dont dépendent tant d'organismes vivants depuis les Invertébrés jusqu'aux Mammifères marins (Cétacés).

Puis sont étudiés, à titre d'exemple, trois milieux marins spéciaux : les abysses (avec les extraordinaires Poissons qui les habitent), la mer des Sargasses (lieu de ponte des Anguilles d'Europe et d'Amérique), les lagunes littorales et eaux saumâtres que l'auteur connaît particulièrement bien pour les avoir systématiquement étudiées sur le littoral méditerranéen, depuis une vingtaine d'années.

Le chapitre qui suit, intitulé *Essai de Zoologie marine*, occupe presque 200 pages et le Prof. G. PETIT y passe en revue les divers groupes d'Invertébrés (Protozoaires, Spongiaires, Cœ-

lentérés, Vers, Bryozoaires, Brachiopodes, Echinodermes, Mollusques, Crustacés, Tuniciers) et de Vertébrés (Agnathes, Reptiles, Mammifères) qui peuplent le milieu marin.

Pour chacun de ces groupes sont indiquées brièvement les principales caractéristiques morphologiques et biologiques et de belles planches en couleurs nous montrent quelques spécimens pour la plupart originaires de la Méditerranée.

Un appendice consacré aux algues et à la microbiologie marine ainsi que des conclusions sur l'avenir de l'océanographie terminent cet ouvrage à la fois agréable à lire et très richement documenté, qui intéressera vivement les biologistes, comme les amis de la mer.

J. THÉODORIDÈS.

J.-A. RIOUX. — Comité de coordination scientifique du Sahara, mission épidémiologique au Nord-Tchad, publié sous les auspices de l'Organisation commune des régions sahariennes par le Centre d'études et d'informations des problèmes humains dans les zones arides. 132 p., tabl., fig., 40 phot., 1 carte. Paris, 1960.

Le Professeur agrégé J.-A. RIOUX, Maître de conférence à la Faculté de Médecine de Montpellier, a effectué au cours des années 1958 et 1959 plusieurs missions dont le but était une reconnaissance épidémiologique du secteur situé au Nord du Tchad, zone de transition, dans une certaine mesure, entre les régions franchement tropicales et les régions sahariennes. M. J.-A. RIOUX a ainsi successivement parcouru la zone sahélienne, la zone sahélo-saharienne, la zone saharienne (Sahara méridional), atteignant ainsi le Tibesti au Sahara central.

L'ouvrage débute par des « aperçus sur la Biogéographie du Nord-Tchad » (J.-A. RIOUX) où l'histoire du peuplement sous son aspect écologique (substrat, climat en fonction des saisons, eaux stagnantes, eaux vives) est esquissé. Il est fait appel, de plus, à la pallinologie qui ici, comme dans d'autres régions sahariennes, apporte des renseignements intéressants. Les différentes zones du secteur étudié, du Ouaddaï au Tibesti, sont ensuite définies.

L'Homme, dans ses rapports avec le milieu (A. COBLENTZ et G. LAMBERT) constitue un chapitre de base dans cet ouvrage. Les Toubous forment un groupe humain qui demeure encore assez mal connu malgré quelques bonnes études telle que, récemment, celle de J. CHAPPELLE (1957). Il était utile, dans un

travail de parasitologie, de montrer d'abord la vie de ces hommes remarquablement adaptés, pourrait-on dire, au désert.

Le Professeur M. VACHON nous apporte ensuite une bonne étude du Scorpion le plus répandu au Tibesti, le Scorpion des Palmeraies du Borkou, *Leiurus quinquestriatus* M. et E., 1829, de la famille des *Buthidae*. Cette espèce, largement répandue dans l'Est, atteint là sa limite occidentale (Djanet au Nord, Tin Zaouaten au Sud). Ses rapports avec le milieu, comme chez beaucoup de formes sahariennes, sont mal connus. La piqûre est grave. Le venin est plus toxique et agit plus rapidement que celui des vipères, provoquant en particulier une paralysie des centres respiratoires. On semble noter depuis 1957 une recrudescence des accidents dus à ce Scorpion. Il serait intéressant de savoir si les causes doivent en être recherchées dans l'accroissement des populations de l'Arthropode ou si elles ont une autre origine.

L'étude des Phlébotomes du Nord-Tchad (J.-A. RIOUX) forme un chapitre important. Les prédateurs, le cas échéant, sont mentionnés et nous avons retrouvé parmi ceux-ci, non sans surprise, la larve si caractéristique d'un *Crocini* (Planipennes *Myrmeleonidae*) décrite par nous du Sahara Nord-Occidental (1). Il est intéressant de noter que cet Insecte, qui dans le Nord du Sahara semble se développer essentiellement dans les cavités rocheuses (2), est, là, inféodé aux terriers d'*Acomys*.

Le chapitre suivant, qui étudie les Culicides (J.-A. RIOUX), est également important. Les gîtes larvaires sont examinés au cours d'une intéressante synthèse écologique, suivant la classification proposée à propos du « Midi » méditerranéen. Répartition géographique et origine des espèces. Clé de détermination (larves et imagos). Importante bibliographie.

Deux notes ayant pour but, la première, la mise en évidence du « Caractère autogène dans les populations borkouannes de *Culex pipiens* L. », par J.-A. RIOUX, J. PECH et O. MAISTRE, et, la seconde, d'examiner « Le problème de l'anophélisme sans paludisme dans les palmeraies du Borkou », par J.-A. RIOUX, J. RANQUE et J. RUFFIÉ, suivent ces importants chapitres.

L'ouvrage comprend encore quelques notes intéressantes concernant : *Simulium ruficorne* Macquart (P. GRENIER et J.-A.

(1) F. PIERRE. — Morphologie, milieu biologique et comportement de trois *Crocini* nouveaux du Sahara Nord-Occidental. *Bull. Soc. Ent. Fr.*, 119 : 1-22, 47 figs, 1950.

(2) A Béni-Abbès, cette larve a pourtant été récoltée une fois dans un terrier de Rongeurs par F. PETTER.

RIOUX); les Tabanides (liste sommaire, par M. LECLERCQ, P. de MIRÉ et J.-A. RIOUX); Oestres et Oestroses (P. de MIRÉ, J.-A. RIOUX et D. JARRY); *Hirudo michaelsoni* Augener (L.K. PAWLOWSKI et D.-M. JARRY); la schistosomase vésicale (J. RANQUE et J.-A. RIOUX); une entomophytose à *Coelomyces grassei* n. sp. chez *Anopheles gambiae* Gilles (J.-A. RIOUX et J. PECH); les Teignes du village de So au Borkou (J. RANQUE et J.-A. RIOUX).

M. RIOUX, comme le dit le Professeur H. HARANT dans la préface, est à la fois botaniste, parasitologue entomologiste et médecin. Nous savons personnellement qu'il est aussi bon écologiste. Par ailleurs, M. RIOUX a su s'attacher la collaboration de naturalistes de terrain connaissant déjà la région, tels que P. de MIRÉ et P. QUÉZEL, ou bien de spécialistes compétents dans les différents groupes ou problèmes considérés. Des recherches ainsi poursuivies ne pouvaient manquer d'aboutir à une étude d'ensemble excessivement précieuse pour qui s'intéresse aux régions désertiques et à leurs confins.

Franklin PIERRE.

PUBLICATIONS DU LABORATOIRE ARAGO

UNIVERSITÉ DE PARIS

FAUNE DES PYRÉNÉES-ORIENTALES

Cette série, publiée avec l'aide du Conseil général des Pyrénées-Orientales, est avant tout une récapitulation des documents acquis par les chercheurs ayant travaillé dans la région de Banyuls.

Faune marine des Pyrénées-Orientales :

1. — Céphalopodes, par K. WIRZ. — Parasites de Céphalopodes, par R-Ph. DOLLFUS, 1-72, 1958.
2. — Echinodermes, par G. CHERBONNIER, 1-67, 1958.
3. — Opisthobranches, par K. WIRZ-MANGOLD et U. WYSS, 1-71, 1958.
4. — Annélides Polychètes, par L. LAUBIER et J. PARIS, 1-81, 1962.

Faune terrestre et d'eau douce des Pyrénées-Orientales :

1. — Hyménoptères Vespiformes des environs de Banyuls, par H. NOUVEL et H. RIBAUT, 1-32, 1958.
2. — *Aphidoidea*, par G. REMAUDIÈRE, 1-66, 1958.
3. — Névroptéroïdes, par J. AUBER, 1-42, 1958.
4. — Odonates, par P. AGUESSE, 1-54, 1958.
5. — Thécamoébiens du sol, par L. BONNET et R. THOMAS, 1-103, 1960.
6. — Lépidoptères. I. Macrolépidoptères, par Cl. DUFAY, 1-153, 1961.

Les fascicules de la **Faune des Pyrénées-Orientales** sont en vente à la librairie Hermann, 115 boulevard Saint-Germain, Paris (6°).

IMPRIMERIE
LOUIS-JEAN
— GAP —

Gérants : N. COINEAU

Dépôt légal : N° 569 — Date de parution : Mai 1963 — N° d'impression : 1964