

# Essai d'utilisation de la méthode polarographique de dosage de l'oxygène pour l'estimation de la respiration d'*Acartia clausi*

par

PAUL NIVAL\*, SUZANNE NIVAL\* et CLAUDE LEROY\*\*

\* Station zoologique, Villefranche-sur-Mer (France)

\*\* Musée océanographique, Monaco (Principauté)

On peut distinguer trois techniques principales pour la mesure de l'oxygène en biologie : méthode chimique de Winkler, méthode manométrique de Warburg et polarographie.

Dans le cas des études de respiration de Copépodes, les deux premières techniques présentent plusieurs inconvénients : la méthode de Winkler rend difficile la réutilisation des Copépodes d'expérience, elle nécessite un volume d'eau relativement élevé et ne permet pas facilement la mesure en continu. La méthode manométrique utilise un trop faible volume d'incubation et place les Copépodes dans des conditions respiratoires très différentes de celles du milieu dont ils sont issus. La méthode polarographique, par contre, permet la mesure en continu et la réutilisation des animaux d'expérience; ceux-ci sont placés dans de l'eau de mer non dégazée et dans un volume d'eau que l'expérimentateur peut faire varier dans certaines limites.

## Historique

Le principe de la méthode est le suivant : une tension constante appliquée entre deux électrodes engendre dans un circuit un courant d'intensité proportionnelle à la quantité d'oxygène dissous dans le milieu. Cependant ce courant varie selon la température du milieu; il convient donc de travailler à température constante. De plus, dans le cas d'expériences dans des liquides biologiques — en particulier en milieu marin — le courant produit sur les électrodes un dépôt de matière organique qui les dépoliarise; on peut éviter ce dépôt par l'emploi d'une cathode dont la surface se renouvelle sans cesse (cathode gouttante, de mercure). Celle-ci cependant est peu pratique et présente des risques de toxicité pour du matériel vivant. Un autre moyen d'éviter la dépoliarisation des électrodes est d'utiliser une cathode tournante. Ces électrodes sont peu applicables à des mesures en présence d'organismes vivants.

Enfin en 1953, CLARKE *et al.* expérimentent en protégeant les électrodes du dépôt de substances organiques par une membrane de matière plastique (téflon, polyéthylène, polypropylène). KANWISHER [1959] et CARRIT & KANWISHER [1959] utilisent de telles électrodes pour des mesures en continu dans l'eau.

TEAL & HALCROW [1962] appliquent la méthode de Kanwisher à l'étude de la respiration de gros Copépodes isolés ou de petits Copépodes en nombre restreint. Ils utilisent des électrodes de platine et d'argent-oxyde d'argent, et une membrane isolante en polyéthylène. Un thermostat contrôle la température d'expérience. Cette technique permet de mesurer la respiration d'un *Calanus finmarchicus* avec environ 10 p. 100 d'erreur.

## Méthode

Nous avons employé un polarographe IL, modèle 125 A\*\*\*. La cellule de mesure (0,1 cc), à laquelle aboutit la partie active des électrodes, est placée dans un bain thermostaté.

\*\*\* Nous remercions vivement le groupe de biologie marine du C.E.A. des facilités qu'il nous a données pour l'utilisation de cet appareil.

Rapp. Comm. int. Mer Médit., 20, 3, pp. 301-303 (1971).

Préparation des Copépodes d'expérience : nous avons prélevé les *Acartia* dans du plancton recueilli avec un filet à vide de maille de 100  $\mu$ . Nous les avons gardés 24 h dans de l'eau filtrée sur Millipore HA (0,45  $\mu$ ) à la température de 16°C, avant de les transférer dans les flacons d'expérience remplis d'eau de mer filtrée comme précédemment. Ce temps de repos est destiné à éviter la forte consommation d'oxygène généralement observée dans les premières heures qui suivent la pêche [MARSHALL, NICHOLLS & ORR, 1935; RAYMONT & GAULD, 1951].

Dans une série d'expériences nous avons pu faire une comparaison des résultats obtenus avec le polarographe et par la méthode de Winkler. Les échantillons d'eau pour le dosage par la méthode de Winkler étaient prélevés dans le flacon d'expérience et fixés au moment de la mesure au polarographe. La différence entre les deux séries de mesures n'est pas significative.

MARSHALL & ORR [1958] ont montré qu'il n'y avait pas d'action significative de la taille du récipient ou de la concentration des Copépodes sur leur respiration. Pour ZEISS [1963], la respiration des Copépodes augmente lorsque l'espace disponible décroît, mais l'auteur pense que cette variation peut être masquée dans les expériences habituelles par les stimulations thermiques et mécaniques. Nos flacons d'expérience, en verre, à bouchon rodé, avaient une contenance de 250 ou 500 cc selon les séries d'expériences. Les *Acartia* utilisés étaient de taille relativement petite : longueur du céphalothorax : 0,70 à 1,02 mm (moyenne sur 100 individus : 0,88 mm) — longueur totale moyenne : 1,13 mm. Le volume des récipients nécessite d'expérimenter avec 100 à 1000 individus afin d'obtenir une diminution sensible de l'oxygène au cours de l'expérience. Nous appellerons « temps d'incubation » la période pendant laquelle se fait l'estimation de la respiration. Dans nos expériences le temps d'incubation était en général de 4 h (variant de 2 h 30 à 7 h selon les expériences).

MARSHALL *et al.* [1935] ont observé une forte augmentation de la respiration de *Calanus finmarchicus* soumis à la lumière naturelle. Par contre, pas plus que CONOVER [1956] pour *Acartia clausi* et *A. tonsa*, ils n'ont observé d'action de la lumière artificielle. Dans deux de nos expériences les flacons recevaient la lumière naturelle (lumière); dans les autres ils étaient entourés de papier d'aluminium (obscurité).

Dans les expériences 5 et 6 nous avons tenté de minimiser l'influence des stimulations mécaniques des *Acartia* au moment de leur transfert dans les flacons. Les *Acartia* sont placés dans les flacons d'expérience 24 h environ avant la période d'incubation; un courant d'eau filtrée sur millipore HA est assuré à travers les différents flacons. Le début de l'incubation est alors fixé au moment où on interrompt la circulation d'eau et où on bouche les flacons.

Les témoins sont des flacons identiques à ceux qui reçoivent les Copépodes et traités de la même façon.

### Résultats

Nos résultats mettent en évidence l'influence de l'illumination sur la respiration d'*Acartia clausi*. Le taux respiratoire triple chez les individus placés à la lumière.

La moyenne des valeurs de consommation d'oxygène est pour les expériences effectuées à l'obscurité de 33. 10<sup>-3</sup>  $\mu$ l/Copépo/de/Heure et pour les expériences effectuées à la lumière de 97. 10<sup>-3</sup>  $\mu$ l O<sub>2</sub>/Copépo/de/Heure.

Le tableau ci-dessous résume les conditions des différentes expériences et leurs résultats.

N° Exp.	Date	Conditions		Volume flacon (cc)	Nombre Copép/litre (moyenne)	Nbr. essais simultanés	Résultat en $\mu$ l/Cop/heure		
		lumière	T ° C				min.	max.	moyenne
1	2.3.68	obscurité	20	250	2448	1			37.10 <sup>-3</sup>
2	11.3.68	obscurité	20	500	760	5	10.10 <sup>-3</sup>	51.10 <sup>-3</sup>	33.10 <sup>-3</sup>
3	23.3.68	obscurité	16	250	1295	4	24.10 <sup>-3</sup>	46.10 <sup>-3</sup>	38.10 <sup>-3</sup>
4	6.5.68	lumière	16	500	198	5	84.10 <sup>-3</sup>	160.10 <sup>-3</sup>	112.10 <sup>-3</sup>
5	11.5.68	lumière	16	500	528	4	51.10 <sup>-3</sup>	150.10 <sup>-3</sup>	82.10 <sup>-3</sup>
6	17 et 18 5.68	obscurité	16	500	635	4	19.10 <sup>-3</sup>	32.10 <sup>-3</sup>	26.10 <sup>-3</sup>

## Discussion

Les valeurs de respiration que donne la littérature pour *Acartia clausi* couvrent un très vaste registre. CONOVER [1959] trouve, à 10 °C, une consommation de 28 à 92. 10<sup>-3</sup> µl O<sub>2</sub>/Cop/heure. Pour *Pseudocalanus elongatus*, de taille comparable à *Acartia*, MARSHALL & ORR [1966] montrent une respiration de 31 à 65. 10<sup>-3</sup> µl O<sub>2</sub>/Cop/heure à une température de 10 °C.

Les auteurs ont montré que la consommation d'oxygène augmente avec la température d'expérimentation. Pour des expériences à l'obscurité, ANRAKU [1964] obtient à 14,5 °C 43. 10<sup>-3</sup> µl O<sub>2</sub>/*Acartia*/heure; à 10 °C MARSHALL & ORR [1966] trouvent 26 à 90. 10<sup>-3</sup> µl O<sub>2</sub>/*Acartia*/heure; à 5,9 °C CONOVER [1960] observe une consommation de 9. 10<sup>-3</sup> µl O<sub>2</sub>/*Acartia*/heure.

On voit donc que pour des températures de même ordre nos résultats sont comparables aux valeurs citées ci-dessus, obtenues par les méthodes manométrique ou chimique. La méthode polarographique permet cependant une plus grande souplesse d'expérimentation que les deux premières. Elle n'utilise qu'une très faible quantité d'eau tout en autorisant l'expérimentation sur de grands volumes. Elle peut permettre aussi de suivre de manière continue les variations de la concentration du milieu en oxygène. D'autre part elle est rapide.

## Conclusion

Les mesures de consommation d'oxygène que nous avons effectuées ne donnent encore qu'une estimation grossière des besoins réels d'*Acartia clausi*, les conditions de maintien des individus pendant l'expérimentation étant bien différente de celles du milieu marin. Néanmoins l'estimation, même approximative, des besoins respiratoires des Copépodes peut faciliter l'évaluation de leur métabolisme et permet ainsi l'approche du second maillon de la chaîne alimentaire marine, le broutage du phytoplancton par les Copépodes herbivores.

## Références bibliographiques

- ANRAKU (M.), 1964. — Influence of the Cape Cod canal on the hydrography and on the copepods in Buzzards Bay and Cape Cod Bay, Massachusetts. II. Respiration and feeding. *Limnol. & Oceanogr.*, **9**, 2, pp. 195-206.
- CLARKE (L.C.), WOLF (R.), GRANGER (D.) & TAYLOR (A.), 1953. — Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. *J. Appl. Physiol.*, **6**, pp. 189-193.
- CONOVER (R.J.), 1956. — Oceanography of long island sound, 1952-1954. VI. Biology of *Acartia clausi* and *Acartia tonsa*. *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.*, **15**, pp. 156-233.
- CONOVER (R.J.), 1959. — Regional and seasonal variation in the respiratory rate of marine copepods. *Limnol. & Oceanogr.*, **4**, 1, pp. 259-268.
- CONOVER (R.J.), 1960. — The feeding behaviour and respiration of some marine planktonic crustacea. *Biol. bull.*, **119**, pp. 399-415.
- KANWISHER (J.), 1959. — Polarographic oxygen electrode. *Limnol. & Oceanogr.*, **4**, 1, pp. 210-217.
- MARSHALL (S.M.), NICHOLLS (A.G.) & ORR (A.P.), 1935. — On the biology of *Calanus finmarchicus*. VI Oxygen consumption in relation to environmental conditions. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, **20**, pp. 1-28.
- MARSHALL (S.M.) & ORR (A.P.), 1958. — On the biology of *Calanus finmarchicus*. X. Seasonal changes in oxygen consumption. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, **37**, pp. 459-472.
- MARSHALL (S.M.) & ORR (A.P.), 1966. — Respiration and feeding in some small copepods. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, **46**, 3, pp. 513-530.
- RAYMONT (J.E.G.) & GAULD (D.T.), 1951. — The respiration of some planktonic copepods. *J. Mar. biol. Ass. U.K.*, **29**, 3, pp. 681-693.
- TEAL (J.M.) & HALCROW (K.), 1962. — A technique for measurement of respiration of single copepods at sea. *J. Cons.*, **27**, 2, pp. 125-128.

