

N° d'ordre : 2885

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE BORDEAUX 1

ECOLE DOCTORALE

"Sciences du vivant, Géosciences et Sciences de l'Environnement"

par **Laure CORBARI**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPECIALITE : Océanographie, Paléo-océanographie

**Physiologie respiratoire, comportementale et morpho-
fonctionnelle des ostracodes Podocopes et Myodocopes
et d'un amphipode caprellidé profond.
Stratégies adaptatives et implications évolutives.**

Soutenue le : 16 novembre 2004

Après avis de :

Mr. John Simmers
Mr. Jean Vannier

Directeur de recherche
Directeur de recherche

CNRS, Univ. Bordeaux 2
CNRS, Univ. Lyon 1

Rapporteur
Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

Mr. Pierre Chardy
Mr. Philippe Janvier
Mr. Jean Charles Massabuau
Mr. Jean Pierre Peypouquet

Professeur
Directeur de recherche
Directeur de recherche
Professeur

CNRS, UMR 5805, Bordeaux 1
Muséum d'Histoire Naturelle, Paris
CNRS, UMR 5805, Univ. Bordeaux
UMR 5805, Univ. Bordeaux1

Président
Examineur
Examineur
Examineur

Moment crucial, les remerciements !

Syndrome de la feuille blanche, choix des divers synonymes de merci... Par où commencer ? Comment réussir à remercier l'ensemble des personnes rencontrées durant cette thèse en quelques lignes ? Voilà le point important de la recherche : Les gens ! Pour ma part, la thèse c'est pas mal de solitude (seule en manip, devant un ordinateur ou une feuille blanche...) avec beaucoup de monde autour !! Et ce sont eux, précisément, les éléments indispensables au bon déroulement de cette thèse... Commencer cette thèse dans les conditions qui ont été les miennes, nécessite une certaine motivation voire ténacité ! C'est aussi pas mal de doutes... Mais je crois sincèrement que sans le côté humain de cette expérience, mon choix aurait été tout autre ! Mes années de thèse resteront toujours symbolisées par les multiples rencontres et la découverte des gens qui auront sans aucun doute contribué à ma construction personnelle.

Mes remerciements s'adressent en premier et tout naturellement à mon directeur de thèse Jean-Charles Massabuau : merci pour m'avoir permis de faire cette thèse, de ne pas avoir douté de mes compétences. Merci également pour votre ouverture d'esprit au niveau scientifique et votre sens de la bidouille dans les manip. Je vous remercie enfin pour m'avoir laissé suffisamment de liberté pour explorer ma créativité scientifique mais aussi différents coins du globe ... ! J'ai également une petite pensée pour la chaise de votre bureau qui elle aussi a su me supporter (au sens propre du terme) durant ces longues heures de corrections devant votre ordi !

Un grand merci également Alain Boudou, directeur du LEESA, pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire.

Je tiens à remercier les rapporteurs et membres de mon jury de thèse, pour leurs conseils avisés et leurs diverses corrections : M. Vannier et M Simmers ainsi que les membres du jury: M. Chardy, M. Peypouquet, et M. Janvier.

A mes compatriotes du LEESA

Tout d'abord, un très très grand merci à Nathalie Mesmer-Dudons pour son infini talent et patience dans l'art de savoir découper un ostracode avec un couteau en diamant ! merci pour ton inestimable aide en microscopie (tant dans la découpe en "saucisson " des bestioles que pour mon apprentissage au monde de l'invisible). Ta bonne humeur et ta pêche ont fait de tout cela une partie de plaisir !

Ensuite merci au Bruno Etchevarria, tout terrain, sur terre et en mer Voir sur vase ! On a vécu ensemble des moments périlleux dans la vase, inoubliables. Merci de m'avoir accompagné pendant ces innombrables sorties terrain, quelque soient les conditions climatiques et le danger...

Un grand merci à Pierre Ciret pour son aide précieuse dans le monde obscur de la vidéo (acquisition + montage), de l'électronique et dernièrement dans la gravure de DVD ! Attention, haute technologie !

Merci au club des pipelettes du LEESA : Cathy, Florence, Régine, Alexia, Agnès et re-Nathalie. C'est bien d'être des filles et de papoter de trucs de filles ! Merci pour votre bonne humeur générale, vos conseils et pour les glaces partagées au Cornet d'Amour !

Merci également Patrice, Jean-Paul, Henri, Gilles, Yannick et Fabien pour dans le désordre : les discussions scientifiques, la piscine, les coups de main en stat et puis les petits apéro-crêpes !

Et je garde bien entendu le meilleur pour la fin... mes très chers collègues de bureau : Véro, Caro et Jean-Pierre ! Merci pour votre soutien, votre amitié, votre humour ! j'ai passé dans ce bureau des moments inoubliables, de fous rires (vive l'autruche musicale), de

réflexions hautement philosophiques (grâce à maître Capello, Jean-Pierre) et de réconfort (ça fait du bien de se défouler). Bon, j'espère quand même qu'après mon départ vous garderez toujours les bonnes habitudes : les calendriers de surfeurs, les jeux téléphoniques (HAVAS voyage, bonjour !...oh, c'est lola !), les barbeucs à la plage et les séances musicales !

A mes voisins du LOB :

Tout d'abord, un très grand merci à Jean-Claude Sorbe pour son dynamisme, sa passion pour les crustacés et surtout sa grande culture et ouverture scientifique. Merci pour avoir partagé votre esprit naturaliste et l'art de manier le traîneau suprabenthique.

Je tiens également à exprimer toute ma gratitude à Michelle Capdepuuy qui m'a donné l'opportunité d'enseigner à l'université. Merci beaucoup d'avoir eu confiance en mes capacités d'enseignante. Grâce à vos qualités humaines, vous avez cru en mon potentiel et su me redonner confiance au bon moment !

Je n'oublie pas les étudiants du LOB avec lesquels j'ai passé des moments super dans le train de 18h21 ! Tous ces trajets restent pour moi d'excellents moments de rires et de discussions animées : Merci à Corinne, Hughes, Astrid, Marc, Céline, Valérie, Maud et Tiphaine.

Aux membres du DGO

Merci beaucoup à Pierre Carbonel pour son aide précieuse à décoder le monde obscur des ostracodes, sa grande culture d'ostradologiste et sa biblio !

J'ai également une petite pensée pour Edith Dufour, qui a toujours suivi (de loin maintenant) mes péripéties depuis mon entrée en DEA...y a longtemps maintenant!

Je tiens à remercier les membres du DGO de la mission CADO-AUSCAN avec qui j'ai passé sur le Marion Dufresnes des moments formidables entre les icebergs ! Merci plus particulièrement à Julie, pour ces merveilleux voyages, celui aux pays des manchots nous laisse toujours aussi rêveuses !

A l'équipe du Labo Hydrologie Environnement

Je tiens à remercier Céline Ohayon-Courtès et Cang Nguyen Ba pour m'avoir accueillie au sein de leur laboratoire et de m'avoir donné la chance d'être enseignante durant deux ans. Merci à Josette Pujol pour m'avoir guidée dans l'univers de la bactériologie et de l'hydrologie. Ces fameux TP d'hydro resteront vraiment de bons souvenirs ! Enfin un grand merci à toute l'équipe pour leur bonne humeur et leur aide précieuse.

Aux Bordelais

A la fine équipe des potes bordelais (Estelle, Fred, Flo, Fred, Corinne, Cédric, Loïc, Elisa et Marco), un grand merci pour les apéros du vendredi soir, les concerts, les soirées, les sorties organisées par le Comité d'Entreprise, les enquêtes sur la plage, les piques-niques, les ragots, les hammams, les vacances, les cadeaux d'anniversaire bizarres, les fêtes de thèse réussies etc... Pour résumer c'était super et j'espère que ça le sera encore longtemps ! Et je n'oublies pas Totor, étrange objet, désormais emblème de toute une génération de scientifiques !

A mes parents

Pour terminer, merci à mes parents. Tout simplement merci pour votre soutien, votre affection, merci pour tout .

SOMMAIRE

PREAMBULE	1
Chapitre 1 - INTRODUCTION	2
I – LES OSTRACODES	4
1- Ecologie et mode de vie.....	4
<i>Les Myodocopes</i>	
<i>Les Podocopes</i>	
<i>Mode de reproduction durée de vie</i>	
2- Ostracodes et évolution.....	8
<i>Ostracodes fossiles</i>	
<i>Phylogénie des ostracodes</i>	
3- Anatomie	10
II - LES AMPHIPODES CAPRELLIDES	12
1 – Ecologie et mode de vie.....	12
2 – Evolution.....	13
3 – Anatomie.....	14
III – PHYSIOLOGIE RESPIRATOIRE	16
1- Notions de base.....	16
<i>Les gaz respiratoires</i>	
<i>La fonction respiratoire</i>	
<i>Concept d'homéostasie</i>	
2 – Eléments de physiologie respiratoire chez les crustacés décapodes, crabe et écrevisse	19
3 – Eléments de physiologie respiratoire chez les ostracodes.....	24
<i>Les Podocopes</i>	

Les Myodocopes sans branchies
Les Myodocopes avec branchies
Présence d'hémoglobine chez les ostracodes
Paléo-océanographie, ostracodes et oxygène

4 – Eléments de physiologie respiratoire chez les caprellidés34

IV – PLAN DU TRAVAIL PROPOSE 35

Chapitre 2 – MATERIELS ET METHODES 36

I - LES ANIMAUX 37

1 – Ostracodes.....37

2 - Caprellidés..... 38

3 - Modes de prélèvement.....38

Bassin d’Arcachon

Golfe de Gascogne

4 - Stabulation40

5 - Tri des animaux..... 41

II - METHODES D’ANALYSES - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX 42

1 - Adaptation ventilatoire et cardiaque.....42

Dispositif d’analyse vidéo

Méthode d’analyse

2 - Etude comportementale.....45

Podocopes et gradient d’oxygénation du sédiment

Myodocopes et rythmes circadiens

Comportement du caprellidé profond, Parvipalpus major

III - ANALYSE MORPHO-FONCTIONNELLE 48

Chapitre 3 - LES PODOCOPES **50**

INTRODUCTION 51

RESULTATS

* How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans? The example of the podocopid ostracods.

Corbari L, Carbonel P and Massabuau J-C (2004) *Journal of Experimental Biology*, **207**, 4415-4425.52

* Des crustacés qui ne manquent pas d'air.

Corbari, L, Carbonel, P and Massabuau, J-C (2004) *Pour la science*61

CONCLUSIONS 63

Chapitre 4 – LES MYODOCOPES **64**

INTRODUCTION 65

RESULTATS

* The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*

Corbari L, Carbonel P and Massabuau J-C, (2005) *Journal of Experimental Biology (Sous Presse)*66

CONCLUSIONS 72

Chapitre 5 - Parvivalpus major, caprellidé profond épibenthique **73**

INTRODUCTION 74

RESULTATS

* Video- study of the amphipod caprellid *Parvivalpus major* Carausu, 1941.

Morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms

Corbari L, Sorbe J-C and Massabuau J-C, (2005) *Marine Biology*, **146**, 363-371....75

* Eléments de physiologie respiratoire chez l'amphipode caprellidé *Parvipalpus major*.....81

CONCLUSIONS 87

Chapitre 6 - OSTRACODES, PALEO-MARQUEURS D'OXYGENATION 88

INTRODUCTION 89

RESULTATS

- * The oxygenation strategy in the *Krithe* species (podocopid ostracod) with special emphasis on the vestibule structure

Corbari L, Mesmer-Dudons N, Carbonel P and Massabuau J-C, *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology (en prep)*.....91

- * *Cytherella* as a tool to reconstruct deep-sea paleo-oxygen levels: the respiratory physiology of the ostracod *Platycop Cytherella cf abyssorum*

Corbari L, Carbonel P and Massabuau J-C, *Marine Biology (soumis)*...99

CONCLUSIONS 115

Chapitre 7 – CONCLUSIONS GENERALES 117

- * Résumé des principaux résultats
- * Evolution des mécanismes de contrôle de la fonction respiratoire.
- * Comment les ostracodes seraient arrivés jusqu'à nous ?

BIBLIOGRAPHIE 126

L'oxygène est une des molécules qui a joué, et qui joue, un des rôles les plus fondamentaux dans notre vie sur Terre. C'est une molécule vitale mais c'est aussi un poison: son excès, tout comme son manque, est mortel. Cet excès est aujourd'hui à la base de la principale théorie du vieillissement, la théorie des radicaux libres. La présence d'oxygène est recherchée, tout comme celle de l'eau, sur les exoplanètes comme signe potentiel d'un mode de vie proche du notre.

Sur Terre, l'augmentation de la pression partielle d'oxygène de 1-3 à $\approx 15-21$ kPa¹ a accompagné l'explosion Cambrienne il y a un peu plus de 500 millions d'années. Savoir et comprendre comment l'animal s'est adapté à ce changement d'oxygénation et, au cours de son évolution, a trouvé un équilibre face à ce changement, est donc devenu un challenge particulièrement important.

Dans cette optique, les animaux qui vivaient à cette époque et qui ont traversé les temps jusqu'à nous, avec un minimum d'évolution apparente, présentent évidemment une valeur exceptionnelle. C'est le cas des ostracodes, le groupe sur lequel nous avons principalement travaillé. Les animaux aquatiques aujourd'hui régulent l'état d'oxygénation de leur sang aux valeurs faibles qui auraient régné à l'origine de la vie sur Terre (1-3 kPa) alors que la pression partielle d'O₂ dans une eau équilibrée à l'air au niveau de la mer est 21 kPa. Nos cellules de mammifères se sont aussi maintenues à ce faible niveau d'oxygénation. L'hypothèse est donc que l'animal, aquatique puis aérien, à sang froid puis à sang chaud, se serait continuellement adapté au cours de l'évolution, de telle sorte que l'état d'oxygénation de ses cellules demeure au niveau faible et constant caractéristique de l'état d'oxygénation primitif dans lequel les premières cellules eucaryotes ont évolué (Massabuau, 2001, 2003). Avec les ostracodes, la question centrale posée a donc été : Comment respirait-on il y a 500 millions d'années, comment la respiration était réglée ?

Bien des animaux ont disparu depuis cette époque, et de nombreux autres sont apparus, beaucoup plus récemment. Certains comme nous, ont des systèmes d'échanges gazeux très sophistiqués, mais d'autres présentent des systèmes apparemment très simple, bien que parfaitement efficaces. Certains de ces systèmes paraissent même extraordinairement plus simples (pas de ventilation apparente, branchies "vestigiales") que ceux des ostracodes malgré des morphologies et des comportements très complexes. C'est le cas des caprellidés profonds, qui colonisent, à quelques millimètres près, le même biotope que les ostracodes. C'est pourquoi notre intérêt s'est porté sur ce groupe, et en particulier sur un de ses représentants colonisant les milieux les plus profonds, *Parvipalpus major*, qui n'avait jamais été observé vivant jusqu'à présent. La question ici était « Comment vit-il et assure t-il son approvisionnement en O₂ ? ».

Nous verrons tout au long de ce mémoire les solutions originales apportées par ces animaux, ostracodes et caprellidés, au problème de la vie dans des milieux où l'état d'oxygénation est variable. Nous verrons en particulier que le problème des faibles oxygénations au niveau cellulaire, a pu exister dès le Cambrien et peut faire partie des plus vieux principes de fonctionnement du vivant. Nous verrons finalement qu'un animal peut présenter macroscopiquement tous les attributs d'un animal moderne, mais que s'il lui manque ne serait-ce qu'une composante d'une boucle de régulation physiologique, il reste totalement inféodé à son environnement et soumis à des modes de régulation homéostasique de type comportemental.

¹ Dans une eau équilibrée à l'air (normoxie), la fraction d'O₂ est 20.95 % ($\approx 21\%$) et la pression partielle d'O₂, PO₂, 21kPa ; 1 kPa = 7.502 Torr ou mmHg et PO₂ = 1 kPa correspond à 15°C à une concentration d'O₂ de 0.5 mg·L⁻¹.

Chapitre 1

INTRODUCTION

Chapitre 1
INTRODUCTION

I – LES OSTRACODES

- 1- Ecologie et mode de vie
Les Myodocopes
Les Podocopes
Mode de reproduction durée de vie

- 2- Ostracodes et évolution
Ostracodes fossiles
Phylogénie des ostracodes

- 3- Anatomie

II - LES AMPHIPODES CAPRELLIDES

- 1- Ecologie et mode de vie
- 2- Evolution
- 3- Anatomie

III – PHYSIOLOGIE RESPIRATOIRE

- 1- Notions de base
Les gaz respiratoires
La fonction respiratoire
Concept d'homéostasie

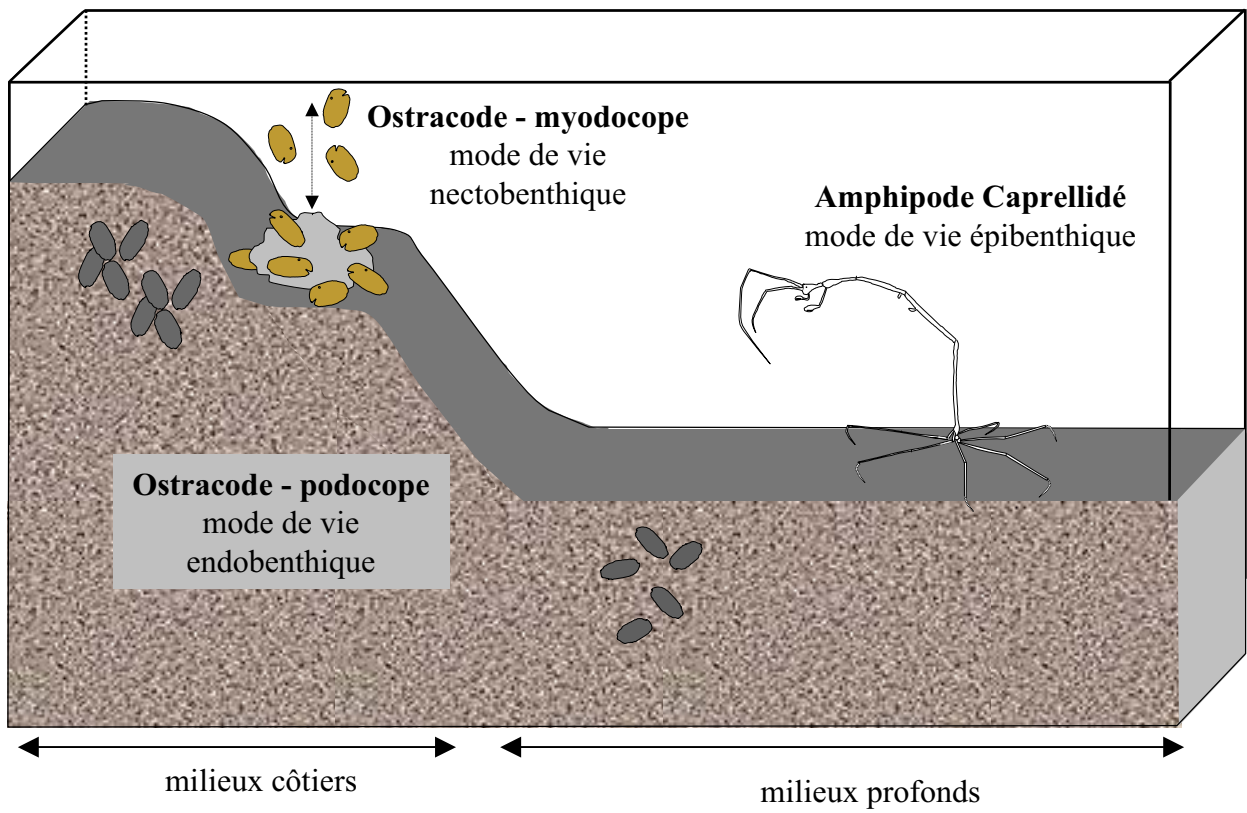
- 2- Eléments de physiologie respiratoire chez les crustacés décapodes, crabe et écrevisse

- 3- Eléments de physiologie respiratoire chez les ostracodes
Les Podocopes
Les Myodocopes sans branchies
Les Myodocopes avec branchies
Présence d'hémoglobine chez les ostracodes
Paléo-océanographie, ostracodes et oxygène

- 4 - Eléments de physiologie respiratoire chez les caprellidés

IV – PLAN DU TRAVAIL PROPOSE

A



B

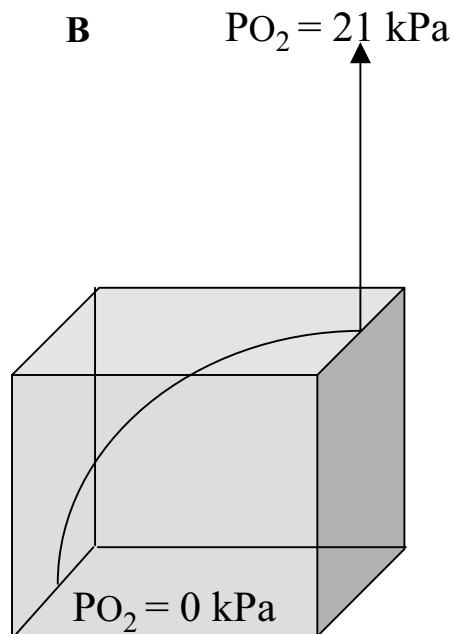


Figure 1 : **A-** Positionnement des trois groupes d'animaux étudiés, ostracodes podocopes, ostracodes mydocopes et caprellidé *Parvivalpus major* autour de l'interface eau-sédiment. **B-** Forme générale du gradient d'oxygénation dans la zone de vie de l'ensemble de la faune étudiée.

Nous rappellerons dans ce chapitre introductif les différents aspects de la classification, de l'écologie et de la biologie générale des ostracodes et des caprellidés en nous replaçant en permanence par rapport à l'unité de lieu où ces animaux vivent, c'est à dire les quelques millimètres autour de l'interface eau-sédiment (Figure 1A). Rappelons que d'un point de vue respiratoire, ces quelques millimètres représentent un challenge formidable. En effet, suivant le contenu en matière organique, le front redox où la pression partielle d'oxygène devient nulle, $PO_2 = 0$ kPa, se situe à 2-3 mm ou cm en dessous de l'interface et la normoxie, $PO_2 = 21$ kPa, est à quelques mm ou cm au dessus de l'interface suivant le mode de renouvellement (ou ventilation) de l'eau de fond (Figure 1B). Par certains aspects, vivre dans ce biotope peut donc être assimilé à vivre aux frontières de la vie et de la mort. Dans chaque chapitre de résultat, le schéma 1B sera représenté avec le positionnement des animaux étudiés.

Nous avons dans un premier temps tenté de définir au mieux la diversité des ostracodes et des caprellidés en ciblant sur les principaux groupes dont nous reparlerons dans les chapitres suivants. Puis nous terminerons sur des rappels de physiologie respiratoire illustrés par l'exemple des crustacés décapodes mais également l'état actuel des connaissances sur la physiologie des ostracodes.

Ce chapitre n'est pas une liste exhaustive de toutes les espèces d'ostracodes et de caprellidés mais plutôt une vision générale des groupes, nécessaire à la bonne lecture de ce travail.

Classe Ostracoda

Sous-classe : Myodocopa

Ordre : Myodocopida

Sous-ordre : Myodocopina

Cypridinoidea

Famille **Cypridinidae**

Cylindroleberidoidea

Famille **Cylindroleberididae**

Sarsilloidea

Famille Philomedidae, Rutidermatidae, Sarsiellidae

Ordre : Halocyprida

Sous-ordre : Halocypridina

Thaumatocypridoidea

Famille Thaumatocyprididae

Halocypridoidea

Famille **Halocyprididae**

Sous-ordre : Cladocopina

Cladocopoidea

Famille Polycopidae

Sous-classe : Podocopa

Ordre : Platycopida

Cytherelloidea

Famille *Cytherellidae*

Ordre : Podocopida

Cytheroidea

Famille Bythocytheridae Cytheridae **Cytherideidae** Cytheromatidae

Cytheruridae Entocytheridae Eucytheridae Hemicytheridae Kliellidae

Krithidae Loxoconchidae Leptocytheridae Microcytheridae

Neocytherideidae Paradoxostomatidae Pectocytheridae Protocytheridae

Psammocytheridae Schizocytheridae Trachyleberididae Xestoleberididae

Terrestricytheroidea

Famille Terrestricytheridae

Bairdioidea

Famille Bairdiidae, Bythocyprididae, Pussellidae

Macrocypridoidea

Famille Macrocyprididae

Pontocypridoidea

Famille **Pontocyprididae**

Cypridoidea

Famille Candonidae, **Cyprididae**, Ilyocyprididae, Notodromadidae

Darwinuloidea

Famille Darwinulidae

Sous-classe : Paleocopida

Puncioidea

Genre Manawa

Tableau 1 : Position systématique des principaux groupes d'ostracodes (Arthropodes; Crustacés). Les genres et espèces étudiés dans ce travail sont en gras. De part leur répartition dans la taxonomie, ils sont représentatifs de l'ensemble des ostracodes marins (Horne et al., 2002).

I - LES OSTRACODES

Les ostracodes sont de petits crustacés (sous-classe Ostracoda) d'une taille généralement inférieure au mm avec des tailles extrêmes atteignant 0.1 mm à 30 mm selon les groupes. Ils sont caractérisés par une carapace bivalve recouvrant l'ensemble du corps et des appendices. A souligner, l'origine du terme Ostracode vient du grec *Ostrakon* qui signifie coquille.

Les ostracodes sont surtout reconnus en tant que micro-fossiles, grâce à leurs valves calcifiées facilement fossilisables dans les sédiments. Ils représentent un des groupes le plus diversifié des crustacés puisqu'on estime qu'il y aurait plus de 20 000 espèces actuelles dont 10 000 ont déjà été décrites ; Mc Kenzie et al., 1999). Les ostracodes représentent également la plus ancienne présence sur terre parmi les arthropodes encore présents actuellement : des formes proches des ostracodes sont présentes depuis plus de 500 millions d'années, au niveau du cambrien inférieur (Mc Kenzie et al., 1999 ; Horne et al., 2002). Véritables "fossiles vivants", les ostracodes font partis d'un des plus grands groupes de crustacés possédant un enregistrement fossile riche et continu depuis le Cambrien inférieur (plus de 65 000 espèces fossiles et espèces vivantes ont déjà été décrites ; Horne et al., 2002).

1 - Ecologie et mode de vie

Les ostracodes sont presque essentiellement aquatiques, vivant des milieux marins jusqu'aux milieux d'eaux douces bien que certaines espèces semi-terrestres aient été récemment étudiées. Dans les océans actuels, ils peuvent vivre depuis les milieux littoraux jusqu'aux grandes profondeurs. Ils sont également présents dans tous les milieux aquatiques possibles : lacs de hautes altitudes (ex lac Licancabur dans les Andes à 6014 m d'altitude), les milieux estuariens, les lacs hyper-salés, les milieux abyssaux et les sources hydrothermales sous-marines.

Ils vivent préférentiellement inféodés au sédiment (endobenthiques) mais certains peuvent être également nageurs (nectobenthiques), enfin certains sont exclusivement planctoniques. Leurs modes de nutrition sont divers : détritivores pour la plupart, ils peuvent être herbivores, filtreurs, prédateurs carnivores et parfois parasites comme par exemple sur des branchies de requins (Bennett et al., 1997) ou dans la cavité branchiale d'isopodes (Royuela et al., 1998 ; Meyer-Rochow, 1999). Les ostracodes appartiennent à trois sous-classes (Tableau 1) :

PODOCOPA

Podocopida (0,3 - 1 mm)

Leptocythere castanea
Cyprideis torosa
Loxoconcha elliptica
Cytheropteron alatum
Krithe sp.
Argilloecia conoidea



Platycopida (1 mm)

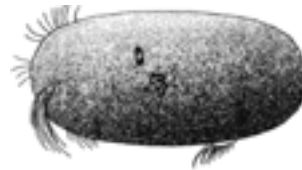
Cytherella lata



MYODOCOPA

Cylindroleberididae (2- 6 mm)

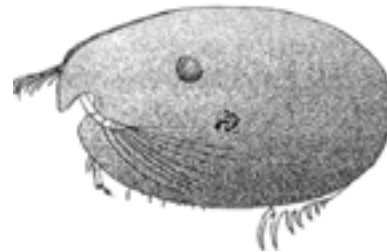
Cylindroleberis mariae



Cypridinidae (3 mm - 8mm)

Vargula hilengdorfii

Gigantocypris (3 cm)



Halocyprididae (2 mm - 8 mm)

Halocypris sp.

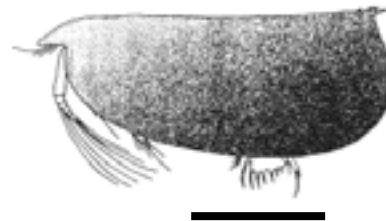


Figure 2 : Position systématique et taille relative des principaux groupes d'ostracodes cités et étudiés dans ce travail. Les proportions des animaux ont été conservées, échelle = 1 mm. Dessins d'après Horne et al., 2002.

- Myodocopa (*myodocopes*)
- Podocopa (*podocopes*)
- Paleocopa (ostracodes fossiles)

La sous-classe des Paleocopida, groupe d'ostracodes fossiles très diversifiés au Paléozoïque est actuellement représentée par un seul groupe rare, récemment décrit : les Puncioïdea dont la seule espèce présente près des côtes de la Nouvelle Zélande est benthique et inféodée au sédiment (Swanson, 1990). Dans le paragraphe concernant l'évolution, nous reviendrons plus en détails sur les groupes d'ostracodes fossiles et éteints en mettant en avant leurs premiers représentants sur terre.

Les Myodocopes

Les ostracodes myodocopes sont exclusivement marins. Ils sont présents depuis les milieux côtiers jusqu'aux milieux abyssaux (≈ 7000 m ; Cohen, 1982) et occupent différentes niches écologiques, ils peuvent être benthiques, nectobenthiques ou strictement pélagiques. Ils sont parmi les plus grands ostracodes car leur taille peut varier de 1 mm à 8 mm, avec le cas particulier du genre *Gigantocypris*, myodocope pélagique présent dans les milieux abyssaux dont la taille peut atteindre plus de 3 cm (Fig. 2).

Les myodocopes ont différents modes de nutrition :

- prédateurs
- décomposeurs-opportunistes
- détritivores
- filteurs

Beaucoup de myodocopes possèdent la particularité de produire de la bioluminescence, sans doute utilisée pour la reproduction ou encore contre la prédation (Cohen et Morin, 1990).

L'espèce *Sheina orri*, décrite en tant que parasite des branchies de requins (Bennett et al., 1997), appartient au groupe des myodocopes de même que l'espèce *Acetabulastoma*, parasite des branchies d'isopodes (Royuela et al., 1998 ; Meyer-Rochow, 1999).

Les myodocopes strictement pélagiques (essentiellement les Halocyprididae et une partie du groupe des Cypridinidae dont nous reparlerons dans le chapitre 4 ; Tableau 1 et Fig. 2) sont présents dans la colonne d'eau, au large des côtes. Ils font partis du zooplancton. Comme la composante planctonique, ils effectuent des migrations et sont présents de la surface à 4000 m de profondeur (Cohen, 1982). Ces ostracodes, nageurs performants, sont capables d'effectuer des migrations de plusieurs centaines de mètres dans la colonne d'eau (entre 300 -

400 mètres) en fonction de rythmes circadiens. Leurs vitesses d'ascension et de descente ont été respectivement reportées jusqu'à 1.5 à 2.5 cm.sec⁻¹ selon les espèces (Angel, 1970, 1993).

Les myodocopes benthiques ou nectobenthiques appartiennent aux familles des Cypridinidae et Cylindroleberididae (Tableau 1 et Fig. 2). Ils sont présents depuis les milieux côtiers jusqu'aux milieux profonds, au niveau des sédiments océaniques dans lesquels ils vivent pour la plupart enfouis. Les ostracodes de ces deux familles (Cypridinidae et Cylindroleberididae) peuvent également nager activement au-dessus du fond, en s'élevant dans la colonne d'eau durant la nuit (Arashkevich, 1977 ; Vannier et al., 1998).

Les Cylindroleberididae (*l'espèce Cylindroleberis mariae est étudiée dans le chapitre 4*) sont essentiellement benthiques ou nectobenthiques. Ils créent chez certaines espèces, des sortes de terriers ou "nids" en agglutinant des débris végétaux ainsi que des grains de sables où ils se cachent durant la journée. Ils pratiquent également des migrations nocturnes dans la colonne d'eau selon des rythmes circadiens (Macquart-Moulin, 1999). Bien que leur distribution écologique soit vaste, les Cylindroleberididae sont essentiellement présents dans les zones côtières. Ils sont considérés comme des filteurs (Smith et Horne, 2002), utilisant les soies de leurs appendices pour extraire la nourriture des courants d'eau qu'ils génèrent par le battement de leurs deux palettes ventilatoires (scaphognathites, voir section respiration). Selon la littérature (Smith et Horne, 2002), beaucoup de Cylindroleberididae utilisent ce mécanisme quand ils sont au repos enfouis dans les sédiments qu'ils agglomèrent avec des phytodétritus en forme de nids. L'étude de Cannon (1933) est la principale référence sur le mode de nutrition par filtration chez les myodocopes de cette famille. *Dans le chapitre 4, nous discuterons du rôle de la ventilation et de sa possible fonction dans le mode de nutrition par filtration et/ou les échanges gazeux.*

Les Podocopes

Par comparaison avec le groupe des myodocopes que nous venons de voir, le groupe des podocopes est le plus diversifié et le plus largement répandu, que ce soit dans les milieux marins, saumâtres ou d'eau douce. Il regroupe plus de 80 % des espèces d'ostracodes décrites (Cohen, 1982). C'est dans ce groupe que sont présentes les plus petites formes d'ostracodes, de 0.1 mm à 3 mm (Fig. 2). Ils sont tous inféodés au sédiment et la majorité sont endobenthiques. Dans ce groupe, il existe également des formes ostracodes terrestres ou semi-terrestres, vivant dans différents milieux humides (mousses, lits de feuilles, sols marécageux) avec par exemple l'espèce *Elpidium bromeliarum* qui vit à la base des feuilles de certaines broméliacées épiphytes des forêts du Brésil (Lopez et al., 2002).

Le groupe des podocopa comprend 2 ordres (Tableau 1) :

- Platycopida (*Platycopes*)
- Podocopida (*Podocopes*)

Les Platycopida, endobenthiques, sont présents de manière prédominante dans les milieux marins profonds. Ils vivent dans des sédiments vaseux à sablo-vaseux. L'espèce *Cytherella lata* (étudiée dans le chapitre 6 sur les ostracodes paléo-marqueurs d'oxygénation) a été récoltée par exemple dans les sédiments du Golfe de Gascogne entre 500 et 2000 mètres de profondeur. Cette espèce ainsi que le groupe entier des Platycopida, sont décrits comme étant des ostracodes filtreurs (Cannon, 1933 ; Smith et Horne, 2002). Nous reviendrons d'ailleurs sur ce mode de nutrition dans la partie physiologie respiratoire de cette introduction.

Parmi l'ordre des Podocopida, le groupe des cytheroïdea est dominant car il regroupe le plus grand nombre d'espèces (> 6000 espèces) vivant des milieux d'eau douce jusqu'au milieu marin. Les Cytheroïdea sont parmi les plus petits podocopes (entre 0.1-1 mm de long, Fig. 1). Ils sont tous inféodés au sédiment dans lequel ils s'enfouissent (mode de vie endobenthique). Ils ne peuvent pas nager dans la colonne d'eau mais peuvent se déplacer sur et/ou dans le sédiment. Leurs modes de nutrition sont variés : herbivores, détritivores voire carnivores (Horne et al., 2002). Six espèces, détritivores, appartenant au groupe des Cytheroïdea ont été étudiées dans ce travail :

- *Leptocythere castanea*, *Cyprideis torosa* et *Loxoconcha elliptica* sont des espèces côtières vivant au niveau de la zone de balancement des marées dans le Bassin d'Arcachon.
- *Cytheropteron alatum*, *Argilloecia conoidea* et le genre *Krithe* vivent dans les sédiments profonds du Golfe de Gascogne.

Mode de reproduction - durée de vie

Mode de reproduction : La reproduction est sexuée pour la plupart des taxons, seul le groupe des Darwinuloïdea (podocopes d'eau douce, Tableau 1) est connu pour utiliser la parthénogenèse. D'autres espèces d'eau douce peuvent émettre des œufs de résistance pouvant survivre au gel quand les conditions deviennent difficiles (Horne et al., 2002). Il n'existe pas de phase larvaire chez les ostracodes, ni de métamorphose : les juvéniles, similaires aux adultes mais de taille inférieure, ont un développement graduel au cours des différents cycle de mue. Les podocopes passent par 8 stades juvéniles et un stade adulte tandis

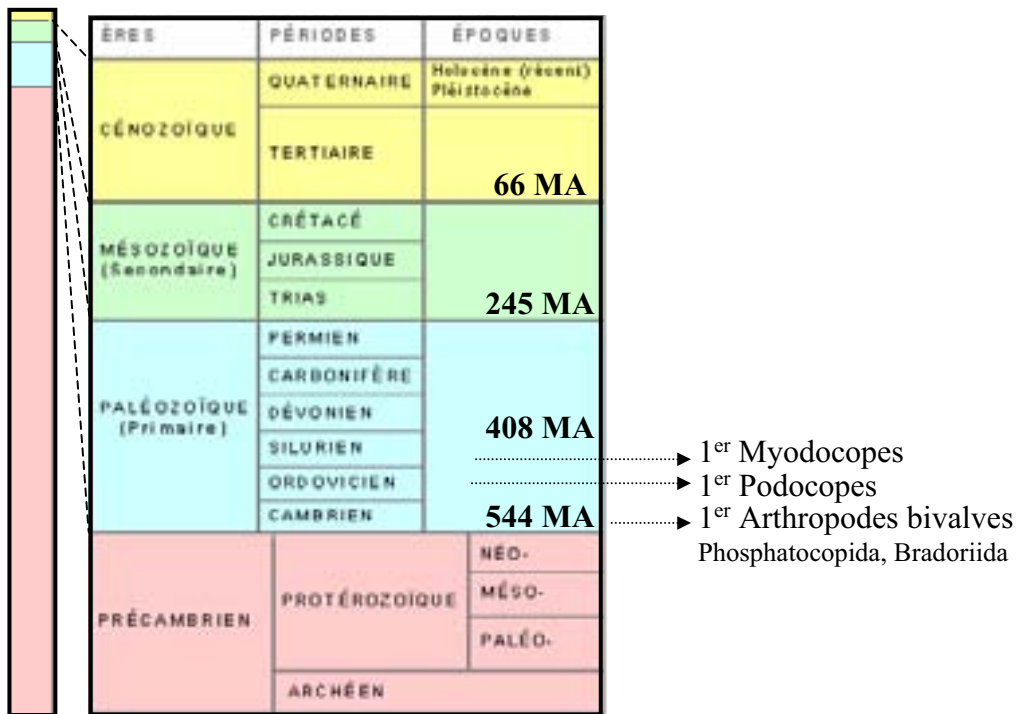


Figure 3 : Échelle des temps géologiques et apparition des principaux groupes d'ostracodes (Whatley et al., 1993).

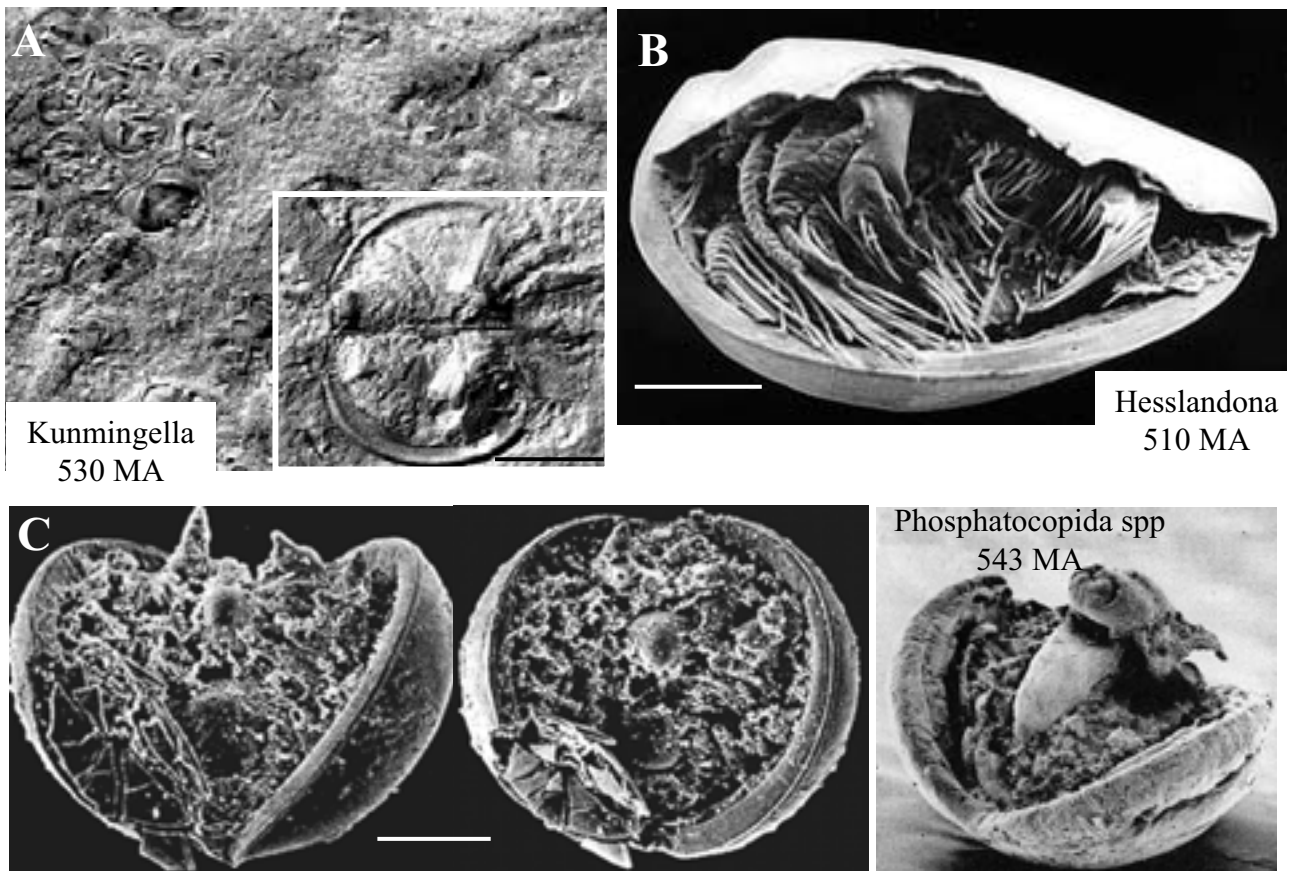


Figure 4 : Arthropodes bivalves fossiles. A- Kunmingella, échelle = 200 µm (Shu et al., 1999). B- Hesslandona, échelle = 1 mm (Müller, 1982). C- Phosphatocopida, échelle = 100 µm (Siveter et al., 2001).

que pour les myodocopes, les stades juvéniles varient de 4 à 7 et un stade adulte selon les groupes (Horne et al., 2002).

Durée de vie : dans la littérature, il existe peu d'information sur la longévité mais il est souligné que leur durée de vie peut atteindre quelques années. Il semblerait que les groupes présents dans les environnements profonds puissent vivre plus longtemps que les espèces côtières, c'est-à-dire de 2 à 3 ans (Cohen, 1982).

- podocopes : durée de vie de quelques mois à 4 ans (Smith et Horne, 2002)
- myodocopes : durée de vie entre 2 mois et 4 ans (Smith et Horne, 2002)
- myodocopes planctoniques (*Halocyprida*) entre 1 mois et deux ans (Angel, 1993).

Nous venons de voir la grande représentativité du groupe des ostracodes au niveau des milieux marins ou d'eau douce. Cependant, les ostracodes n'ont pas extraordinairement réussi seulement par leur omniprésence dans tous les milieux aquatiques : ce sont aussi les principaux micro-fossiles sur terre comme l'atteste l'abondance de leurs valves calcifiées fossilisées dans les sédiments soulignant ainsi la longévité et l'importance du groupe. Nous allons maintenant voir que la remarquable diversité des ostracodes au cours des temps géologiques révèle clairement leur succès évolutif.

2 - Ostracodes et évolution

Ostracodes fossiles

Beaucoup de travaux concernant les ostracodes sont le résultat de disciplines telles que la biostratigraphie, la paléoclimatologie ou encore la paléo-océanographie. Les ostracodes sont de loin le groupe d'arthropodes le plus abondant dans les enregistrements fossiles depuis le Paléozoïque principalement grâce à leurs valves bio-minéralisées, parfaitement conservées dans les sédiments (Horne et al., 2002). Cet enregistrement fossile a donc permis de remonter aux origines du groupe avec en particulier les podocopes dont les premiers représentants seraient apparus au Cambrien inférieur, entre 500-550 MA (Mc Kenzie et al., 1999 ; Fig. 3). Généralement, tous les petits arthropodes bivalves fossiles retrouvés au niveau du Cambrien inférieur appartiennent au groupe disparu des Bradoriida (ex : *Kunmingella* ; 530 MA, Fig. 4A) et à celui des Phosphatocopida (ex : *Hesslandona* ; 510 MA Fig.4B ; *Phosphatocopida* spp., 543 MA, Fig. 4C). Ces deux groupes appartiennent à l'ordre général des Paleocopida ou Archeocopa. Ils avaient jusqu'à récemment été interprétés comme étant les représentants des ostracodes au Cambrien. Mais il semblerait que la présence d'ostracodes au Cambrien

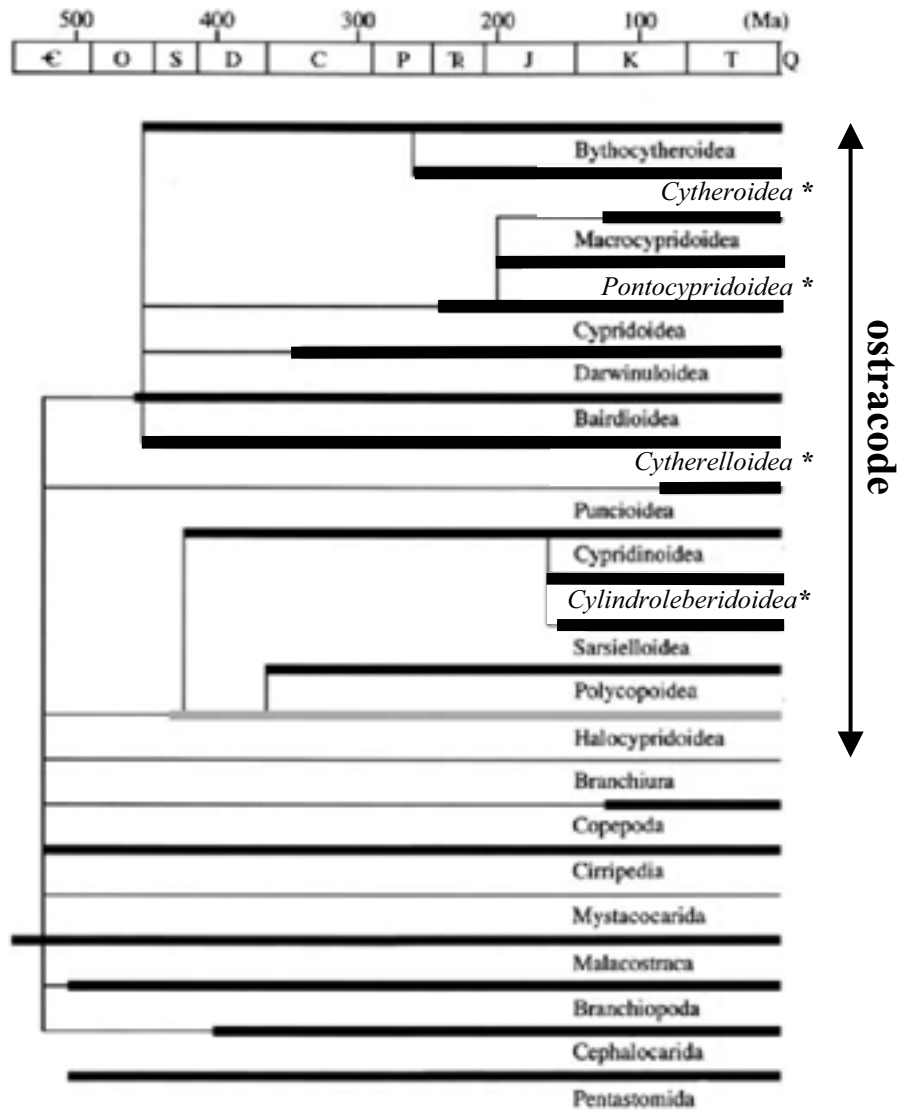


Figure 5 : Arbre phylogénétique des principaux ordres des ostracodes ainsi que des taxons majeurs chez les crustacés (Yamaguchi et Endo, 2003). A noter que les groupes d'ostracodes étudiés dans ce travail sont en italique avec *. La date d'apparition des *Cylindroleberidoidea* est erronée depuis la découverte d'un fossile datant du silurien inférieur, 425 MA (Siveter et al., 2003).

inférieur soit maintenant à reconsidérer (Waloszek, 1999). En effet des études récentes ont démontré que ces groupes ne seraient que voisins de celui des ostracodes (Shu et al., 1999 ; Waloszek, 1999 ; Siveter et al., 2001). A l'heure actuelle et même s'il existe des différences morphologiques entre les arthropodes bivalves du cambrien et le groupe à proprement parler des ostracodes, le débat persiste sur la possible ou probable relation phylogénétique entre eux (Waloszek, 1999).

Phylogénie des ostracodes

Les ostracodes actuels ont toujours été considérés comme un groupe monophylétique* avec un ancêtre commun appartenant à l'ordre des Archeocopa ou Paleocopida (Bradoriidae et Phosphatocopida) selon la littérature et les travaux portant sur l'anatomie comparée des fossiles (Müller, 1982).

De récentes études basées sur l'analyse de l'ADNr 18S de différentes espèces d'ostracodes (Spears et Abele, 1998, Yamaguchi et Endo, 2003 ; Fig. 5) suggèrent que les principales lignées de crustacés (Ostracoda, Copepoda, Malacostraca, Branchiopoda) auraient subi une rapide radiation dans le passé. Certaines ambiguïtés sur le groupe des ostracodes demeurent au niveau morphologique et taxonomique. La dernière étude sur les liens phylogéniques entre les ostracodes (Yamaguchi et Endo, 2003) suggère que cette radiation a été précoce dans le temps entre les groupes des Podocopes et celui des Myodocopes. Les auteurs suggèrent qu'au moins deux lignées d'ostracodes (celle des Platycopes - Podocopes et celle des myodocopes) seraient apparues ensemble au Cambrien à la même période que les principales lignées de crustacés. Les Podocopes et les Platycopes, très proches, représenteraient un groupe monophylétique. Par contre, les analyses de l'ADNr 18S (Yamaguchi et Endo, 2003) suggèrent que l'ensemble du groupe des ostracodes serait plutôt polyphylétique. Cette relation polyphylétique suppose une évolution convergente des deux principales lignées des ostracodes:

- la lignée de l'ancêtre commun conduisant aux Podocopes et aux Platycopes
- la lignée conduisant au groupe des Myodocopes.

Cette radiation évolutive aurait eu lieu au Cambrien et se serait déroulée rapidement (Phillipe et al., 1994). En ce qui concerne les myodocopes, il y aurait donc eu une radiation

* Monophylétique = se dit d'un taxon quand un ancêtre unique a donné naissance à toutes les espèces du taxon (seul un groupe monophylétique peut constituer un clade)

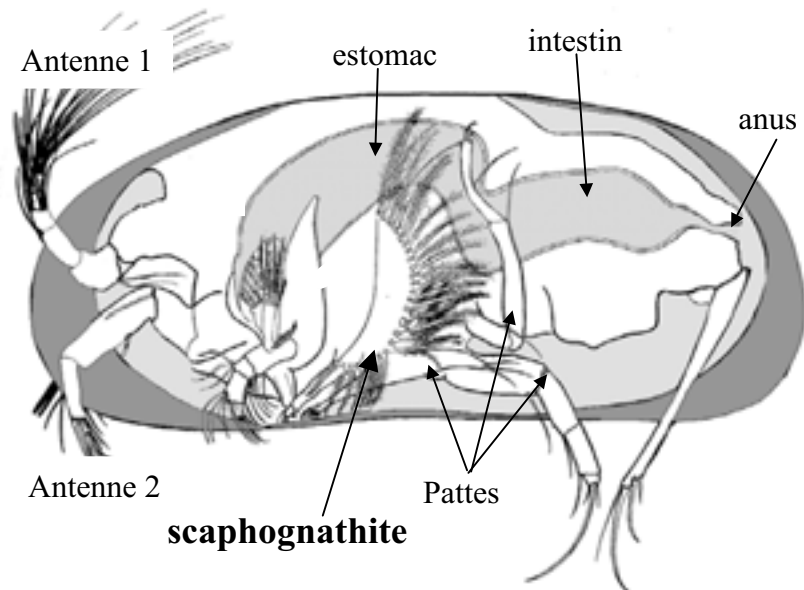


Figure 6 : Morphologie générale d'*Herpetocypris reptans* (Rome, 1947), ostracode podocope d'eau douce (valve gauche enlevée, taille = 3 mm). A noter le tracé de l'organisation interne du tube digestif et la position de l'appendice ventilatoire, le scaphognathite.

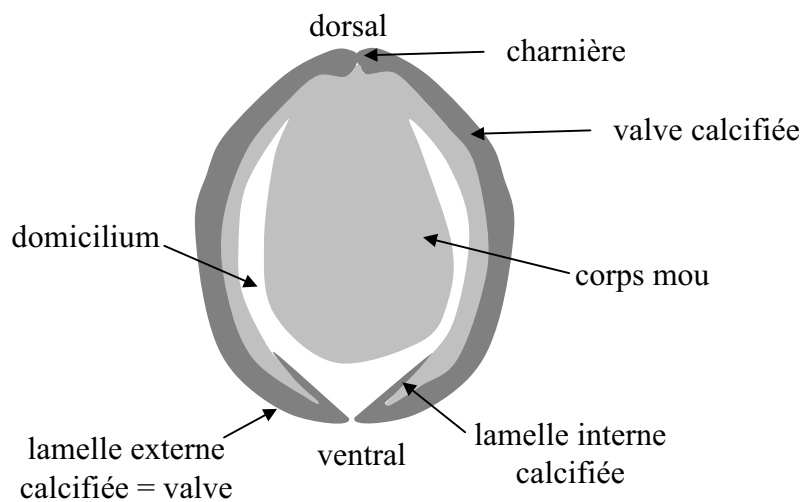


Figure 7 : Coupe transversale schématique du corps d'un ostracode. A noter l'agencement des valves externes calcifiées avec l'ensemble des tissus appelé corps mou. L'espace entre le corps mou de l'ostracode et le reste du corps (valves + tissu sous valvaire) est appelé domicilium. C'est dans le domicilium que circule l'eau ventilée.

rapide après la divergence entre l'ancêtre commun des myodocopes et celui des autres crustacés. Les preuves de cette radiation demeurent cependant rares et incertaines car le plus vieux fossile de myodocopes ne date que du Silurien inférieur (425 MA). Cette récente découverte (Siveter et al., 2003) éclaire de façon remarquable l'évolution du groupe des myodocopes car le fossile *Clymbosathon eplecticos* appartenant à la famille des Cyllindroleberididae possède un cœur, des branchies et un système circulatoire : c'est la seule preuve fossile de l'existence d'un équipement respiratoire chez les ostracodes au niveau du Paléozoïque inférieur (*voir chapitre 4*).

Dans ce travail, les ostracodes étudiés appartiennent à quatre principales familles :

- Myodocopa, Cyllindroleberididae : Silurien inférieur – actuel (Siveter et al., 2003)
- Myodocopa Halocypridea : Cambrien – Actuel (Vannier et Chen, 2000 ; Angel, 1993)
- Platycopina : Ordovicien inférieur – Actuel (Maddock, 1982 ; Wathley et al., 1993)
- Podocopina : Ordovicien moyen – Actuel (Maddock, 1982)

Les ostracodes restent donc le groupe de crustacés le plus ancien dont les premiers représentants apparus au Paléozoïque inférieur sont encore présents de nos jours. La similitude frappante des fossiles du Paléozoïque inférieur avec les ostracodes actuels souligne la continuité morphologique ainsi que la stabilité du groupe au cours de l'évolution (Cronin, 1985). Cette particularité démontre que le groupe des ostracodes demeure un taxon privilégié dans le cadre d'études évolutives et en particulier de la respiration en permettant d'étudier comment les premiers animaux pouvaient fonctionner dans le passé.

3 - Anatomie

Le corps des ostracodes est compressé latéralement et recouvert par une carapace bivalve composée de deux valves plus ou moins calcifiée selon les groupes (Fig. 6). Le corps "mou" (par analogie avec les mollusques bivalves) se compose de deux parties essentielles : le céphalon et le thorax ; l'abdomen est réduit et fusionne avec le thorax. Les ostracodes possèdent entre 7-8 paires d'appendices composés par (de l'avant vers l'arrière) : antennes (antenne 1), antennules (antennes 2), mandibule, maxille, 5^e patte (1^e appendice thoracique), 6^e-7^e pattes et enfin 8^e patte (appendice copulatoire).

L'espace entre le corps de l'animal et la valve est appelé domicilium (Fig. 7). C'est dans le domicilium que circule l'eau ventilée *i.e.* entre les valves, le long du corps de

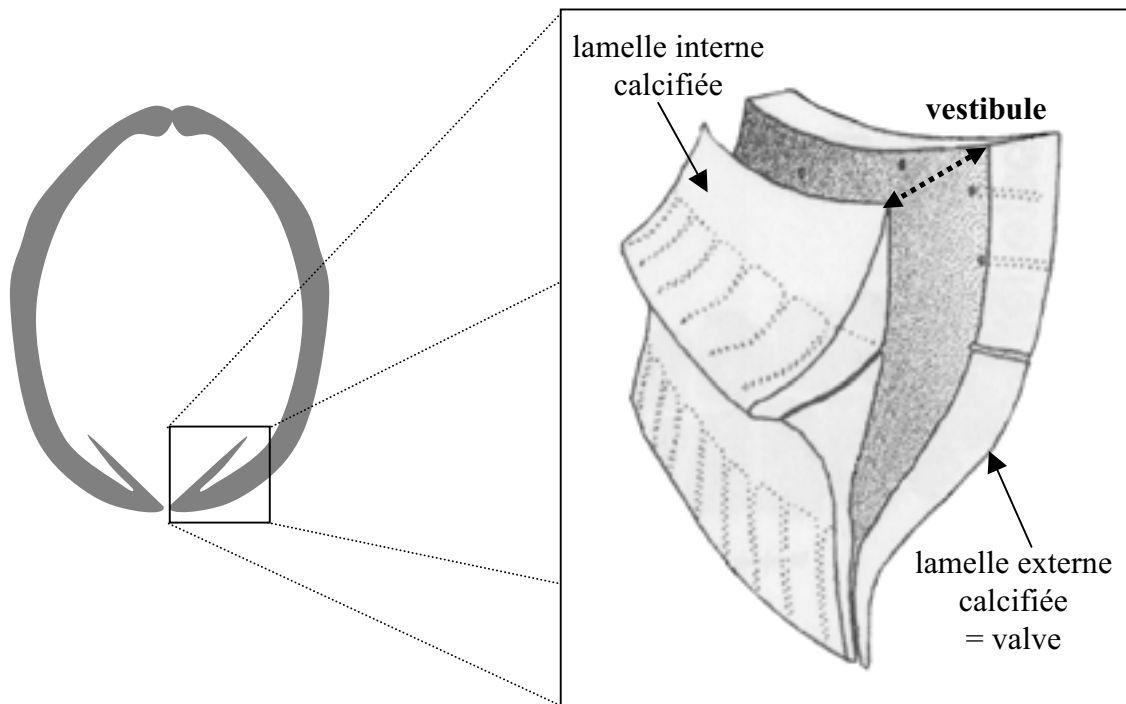


Figure 8 : Valves calcifiées et vestibule chez les ostracodes. Le vestibule (Horne et al., 2002) correspond à l'espace entre la lamelle interne et la partie externe de la valve.

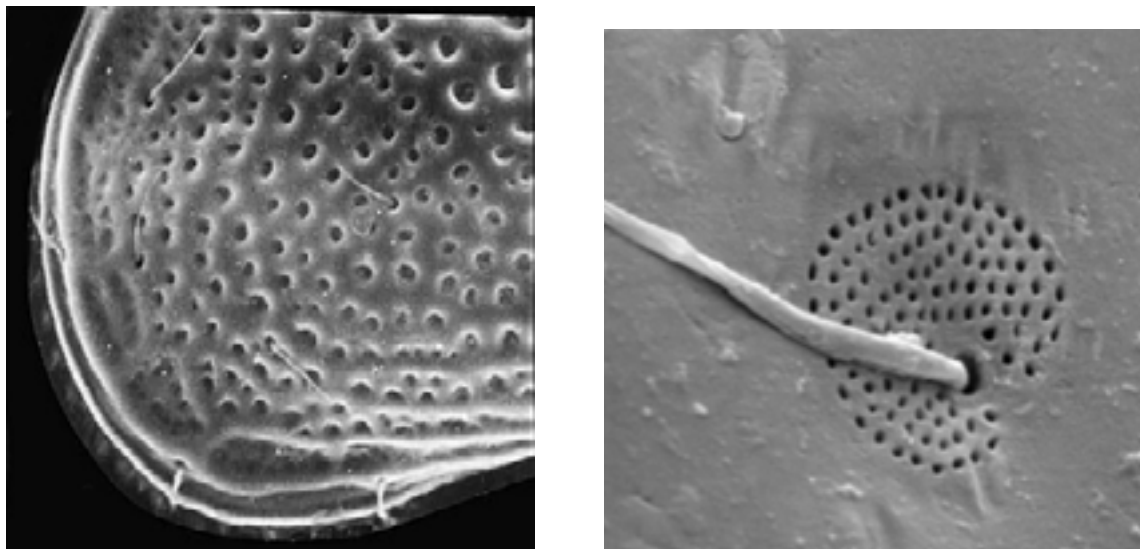


Figure 9 : Canaux de pores et soies au niveau de la valve calcifiée chez un ostracode podocope d'eau douce (Smith et Martens, 2000).

l'animal. Cette circulation d'eau est produite par les battements rythmiques de deux appendices, les palettes ventilatoires ou scaphognathites, indispensables à la première étape de la respiration chez les ostracodes *i.e.* la ventilation (*nous détaillerons cette étape dans la section physiologie respiratoire chez les ostracodes*). Le système digestif des ostracodes est composé de manière classique comme les autres crustacés par estomac - intestin - anus (Fig. 6).

Le corps de l'animal est entièrement recouvert d'une cuticule rattachée aux deux valves grâce à une série de muscles adducteurs puissants dont les empreintes sur les valves fossilisées sont précieuses pour l'identification des espèces. La carapace est composée de deux parties superposées (Fig. 7) : la lamelle externe (partie calcifiée) et la lamelle interne (partie cuticulaire). La lamelle interne, recouvrant l'intérieur de la valve est une continuation de la cuticule recouvrant le corps de l'animal (Fig. 7). Chez certaines espèces, la lamelle interne est partiellement calcifiée formant ainsi une sorte de "bordure" sur la face intérieure des valves (Fig. 8 ; Van Morkhoven, 1962). Sa forme et sa surface ont été étudiées plus particulièrement chez le genre *Kriathe* (Peypouquet, 1975) et mise en relation avec les teneurs en oxygène présentes dans l'eau dans le cadre d'une reconstitution des circulations océaniques passées. *Nous reviendrons sur le vestibule dans la section physiologie respiratoire chez les ostracodes.*

La structure de la carapace correspond à l'agencement classique présent chez les autres crustacés : epicuticule, exocuticule et endocuticule (Bate et East, 1972). Chez les podocopes, l'exo- et l'endocuticule sont bien calcifiées, beaucoup plus que chez les myodocopes. Les myodocopes planctoniques possèdent par contre une fine carapace caractérisée par une endocuticule laminée. Les ostracodes possèdent de nombreux canaux de pores perforant la valve pour laisser traverser de nombreuses soies qui auraient probablement un rôle chémo- ou mécano-sensitif (Fig. 9 ; Okada, 1982).

Au niveau du système visuel, chez la plupart des myodocopes et des podocopes, un œil médian vestigial en position dorsale permet la détection la lumière mais non la vision. Les myodocopes côtiers (essentiellement les *Cylindroleberididae* et *Cypridinidae*) possèdent des yeux composés latéraux bien développés. Leur structure générale correspond à celle des autres crustacés mais ils sont placés sous les valves qui, chez ces espèces, sont faiblement calcifiées et transparentes.

Phylum	Arthropode
Classe	Crustacea
Sous-classe	Malacostraca
Ordre	Amphipode
Sous-ordre	Gammaridea
	Huperiidea
	Ingolfiellidea
	Caprellidea
	↓
	FAMILLES
	Phtisicidae
	Caprellidae
	↓
	GENRES
	Pariambus
	Aeginella <i>Parvipalpus</i>
	Aeginina
	Pedoculina
	Caprella
	Proaeginina
	Deutella
	Pseudolirius
	Liropus
	Pseudoprotella

Figure 10 : Position systématique des Caprellidés, l'espèce *Parvipalpus major*, étudiée dans le chapitre 5 est en gras et italique.

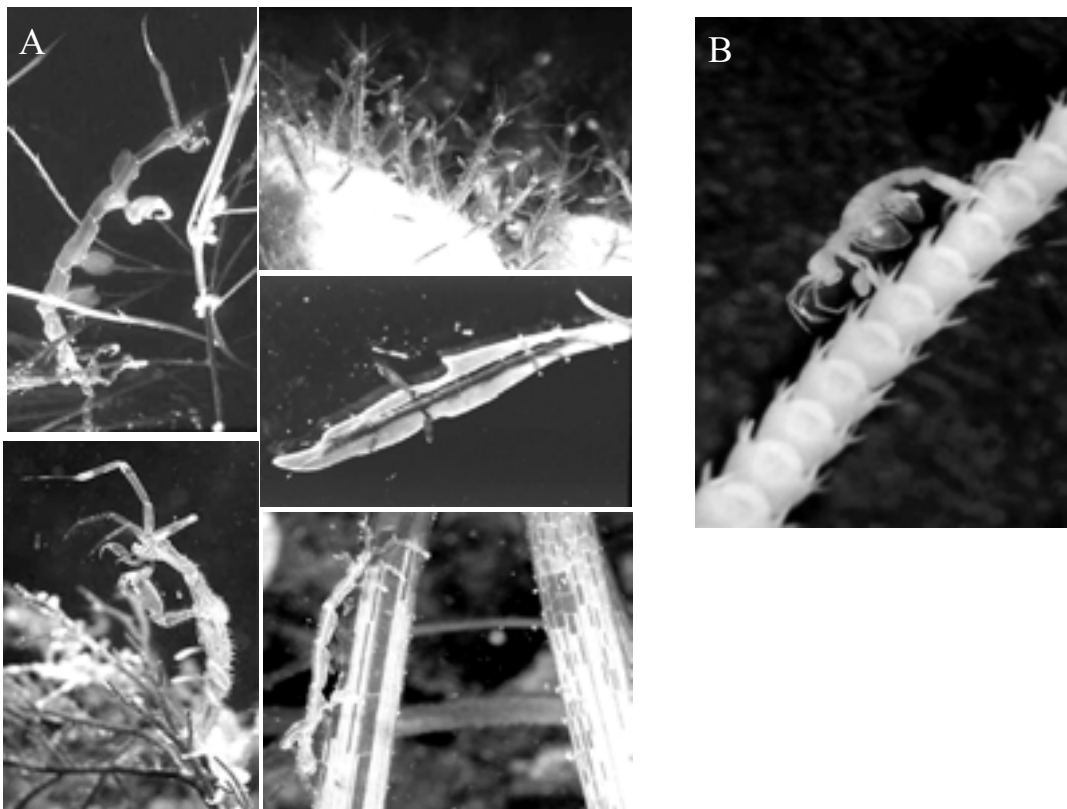


Figure 11: Mode de vie épibionte des caprellidés littoraux. **A**-fixation sur substrats végétaux. Photos site web : <http://www.seaotter.com/marine/research/caprella>. **B**-Fixation sur substrats animaux, branches d'ophiures (Volbehr et Rachor, 1997).

II - LES AMPHIPODES CAPRELLIDES

Le groupe des amphipodes en majorité aquatique, comprend plus de 6 700 espèces réparties en quatre sous ordres (Fig. 10): Gammaridea (environ 5 700 espèces), Hyperiidea, Ingolfiellidea et Caprellidea (environ 300 espèces). Les caprellidés sont de petit amphipodes de taille comprise entre 0.5 – 3 cm (longueur du corps sans les antennes) caractérisés par un corps allongé, grêle et cylindrique.

Les caprellidés, crustacés marins ou d'eau douce sont présents des milieux littoraux jusqu'aux milieux abyssaux (> 4892 m, McCain, 1968 ; Laubitz et Mills, 1972). Néanmoins, la majorité des caprellidés vivent dans les zones côtières comme l'illustre l'exemple du genre *Caprella* qui regroupe à lui seul plus de 100 espèces essentiellement littorales dont seulement 10 espèces vivent à plus de 400 mètres de profondeur (Takeuchi et al., 1989). Jusqu'à aujourd'hui, seulement 44 espèces de caprellidés ont été recensées vivant dans des zones supérieures à 400 m de profondeur (Guerra-García, 2003). La majorité de ces espèces n'est pas strictement inféodée aux milieux profonds car il est possible de les retrouver en milieu côtiers. Seule l'espèce *Abyssicaprella galathae* semble être strictement inféodée aux milieux profonds voire abyssaux (répartition 3501-4004 m). L'espèce *Parvipalpus major* (que nous avons étudié dans le chapitre 5) est également considérée comme un caprellidé profond dont la distribution varie de quelques dizaines de mètres à 1000 mètres de profondeur (Laubitz et Sorbe, 1996). Cette espèce vit à l'interface eau –sédiment et nous l'avons retrouvé dans les mêmes échantillons que les ostracodes podocopes (étudiés dans le chapitre 3).

1 – Ecologie et mode de vie

Les caprellidés représentent un groupe extrêmement spécialisé car la majorité des espèces sont épibiontes. Dans la plupart des cas, leurs substrats sont des organismes sessiles comme des algues, éponges, colonie d'hydriaires ou encore bryozoaires (Fig. 11). Les caprellidés peuvent également utiliser la faune vagile comme substrat (carapaces de tortues, de crabes et éponges ; McCain, 1968; Laubitz et Mills, 1972; Takeuchi et al., 1989; Larsen, 1998) mais le plus souvent on les retrouve sur divers échinodermes (étoiles de mer, ophiures et oursins ; Volbehr et Rachor, 1997).

De rares études sur le comportement des caprellidés littoraux vivant sur divers types d'algues ont permis de mettre en évidence leur positionnement et leur mode de vie en position fixée (Takeuchi et Hirano, 1995 ; Guerra-García et al, 2002). Quatre modes d'attachements et de postures ont été déterminés avec par exemple une position érigée ou encore parallèle au

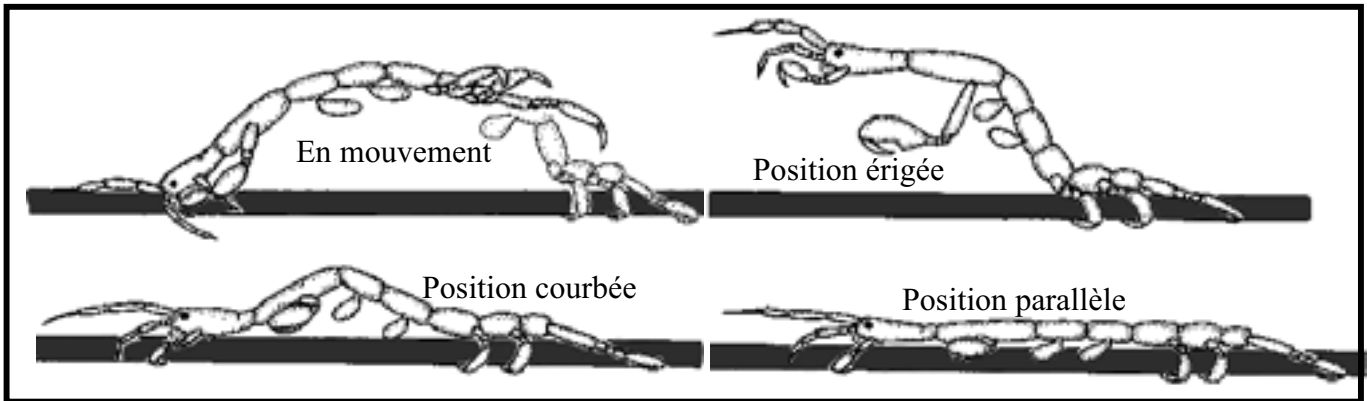


Figure 12 : Différents types de fixation sur substrats végétaux. A noter la spécialisation des appendices postérieurs (péréopodes) permettant ces postures (Takeuchi et Hirano, 1995).

substrat (Fig. 12). Les caprellidés se déplacent sur leur substrat essentiellement par reptation. Ces études permettent de mieux comprendre les particularités et adaptations morphologiques de ce groupe.

Une seule espèce littorale a été rapportée comme vivant libre sur le sédiment. Il s'agit de l'espèce côtière, *Mayerella banksia* (dont nous reparlerons dans le chapitre 5) considérée comme vivant exclusivement ancrée sur le sédiment (Caine, 1978). Nous montrerons que l'espèce profonde *Parvipalpus major* que nous avons étudiée dans le chapitre 5, fait de même. Au sujet des caprellidés profonds, aucune information n'est disponible sur le mode de vie de ces espèces, ni sur les principes de base de leur physiologie respiratoire. Les caprellidés profonds sont essentiellement étudiés dans le cadre de descriptions taxonomiques ou de dynamique de populations et demeurent difficiles à préserver vivants pour des études comportementales contrairement aux caprellidés littoraux. Dans le chapitre 5, nous aborderons le caprellidé profond *Parvipalpus major* dans le cadre d'une étude comportementale et morpho-fonctionnelle.

L'ensemble des caprellidés ne possèdent pas de bonnes capacités natatoires mais peuvent se déplacer par bonds sur de faibles distances. Divers mode de nutrition ont été associés aux différents groupes de caprellidés par homologie avec la morphologie des appendices buccaux : filteurs ("swimming setae"), prédateurs, décomposeurs et enfin brouteurs (Caine, 1977).

2 - Evolution

La classification des amphipodes et en particulier des caprellidés tend à une perpétuelle remise en cause. Le groupe des caprellidés de part l'anatomie des individus qui le compose, est toujours demeuré mystérieux et a sans arrêt subi de nombreuses modifications taxonomiques.

Il n'existe pas de fossiles de caprellidés mais au cours de nombreuses discussions avec des spécialistes du groupe, une période approximative de l'apparition du groupe sur terre a été émise qui semblerait se trouver aux alentours de l'Eocène (vers environ 40 millions d'années, Bellan-Santini, communication personnelle), ce qui comparé, aux ostracodes, fait de ces animaux des organismes récents.

De récentes études phylogéniques basées sur l'utilisation d'outils cladistiques ont tenté de mettre en évidence le lien pouvant exister entre les caprellidés et le reste des amphipodes (Laubitz, 1993 ; Takeuchi, 1993 ; Myers et Lowry, 2003).

Le groupe des caprellidés est généralement considéré comme un groupe monophylétique dérivant du groupe des Podoceridae (ancêtre des gammaridés) et plus

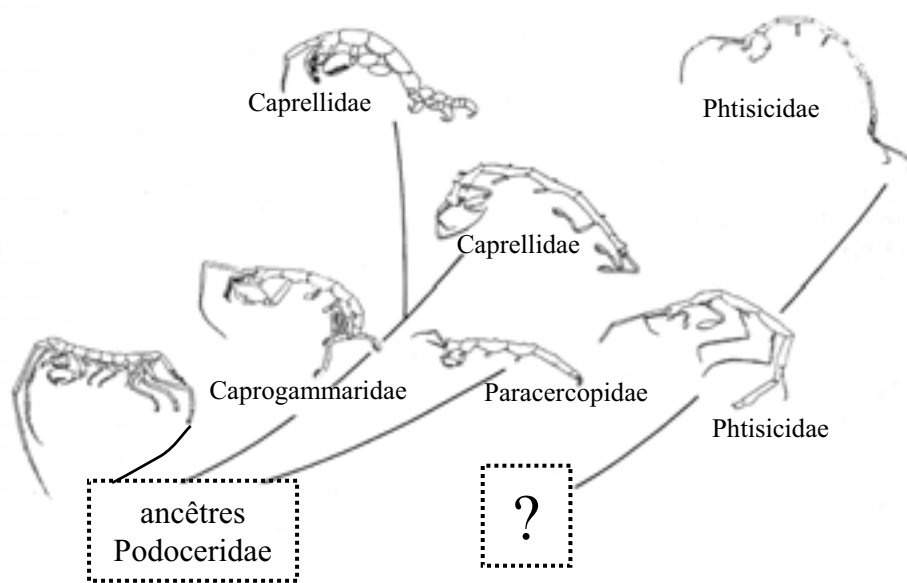


Figure 13 : Phylogénie des caprellidés basée sur l'hypothèse polyphylétique (Takeuchi, 1993).

précisément du genre *Caprogammarus* qui semblerait être le taxon liant les caprellidés et les gammares (McCain, 1968)

Takeuchi (1993) indique des divergences majeures entre les différents genres des caprellidés et plus particulièrement de la famille des Phtisicidae. L'ancêtre des caprellidés appartiendrait au groupe des Podoceridae alors que l'ancêtre des Phtisicidae demeure encore inconnu (Fig. 13). Néanmoins l'état des connaissances actuelles sur les caprellidés ne permet pas de déterminer de manière certaine la monophylie du groupe. Dans la même optique, Laubitz (1993) établit une synthèse des caractères morphologiques généraux des caprellidés et arrive à la conclusion que ce groupe d'amphipodes serait polyphylétique. Aux vues de ces deux études, même si la phylogénie des caprellidés reste incertaine, les auteurs préconisent l'importance des études comportementales et morpho-fonctionnelles chez les caprellidés afin de définir au mieux les spécialisations et les adaptations de ces amphipodes. Une récente analyse phylogénétique des amphipodes (Myers et Lowry, 2003) tend à mettre en évidence un plus grand remaniement au niveau de la taxonomie des caprellidés. Les auteurs proposent une nouvelle classification prenant en considération, en plus des caractères morphologiques, des données écologiques disponibles sur ces animaux (comportement, mode de vie, nutrition etc...). Ils mettent en évidence que les Podoceridae (Fig. 13) feraient partie du clade des caprellidés car ce sont tous deux des organismes qui vivent fixés sur divers substrats (animal, végétal ou minéral). L'évolution du groupe des caprellidés demeure complexe et bien que cette nouvelle classification éclaire la répartition des familles, elle n'est pas encore à ce jour utilisée au sein de la communauté des spécialistes.

3 - Anatomie

Les caprellidés possèdent une des plus originale organisation du corps de tous les crustacés. Celui-ci présente une forme allongée, grêle, cylindrique, un peu comparable à celui des insectes phasmes et impossible à confondre. Cette morphologie distingue les caprellidés du reste des amphipodes (par ex : Gammaridés, représentatifs du groupe ; Fig. 14A) par diverses particularités anatomiques (Fig. 14B et 14C):

- la deuxième paire de pattes thoraciques est très développée (Gnathopodes 2)
- les antennes sont également très longues
- les deux premiers segments thoraciques sont fusionnés avec la tête
- le thorax composé de 7 segments thoraciques extrêmement allongés
- l'abdomen est réduit à un vestige souvent fusionné au segment thoracique 7
- la réduction et/ou l'absence des péréopodes 3 et 4

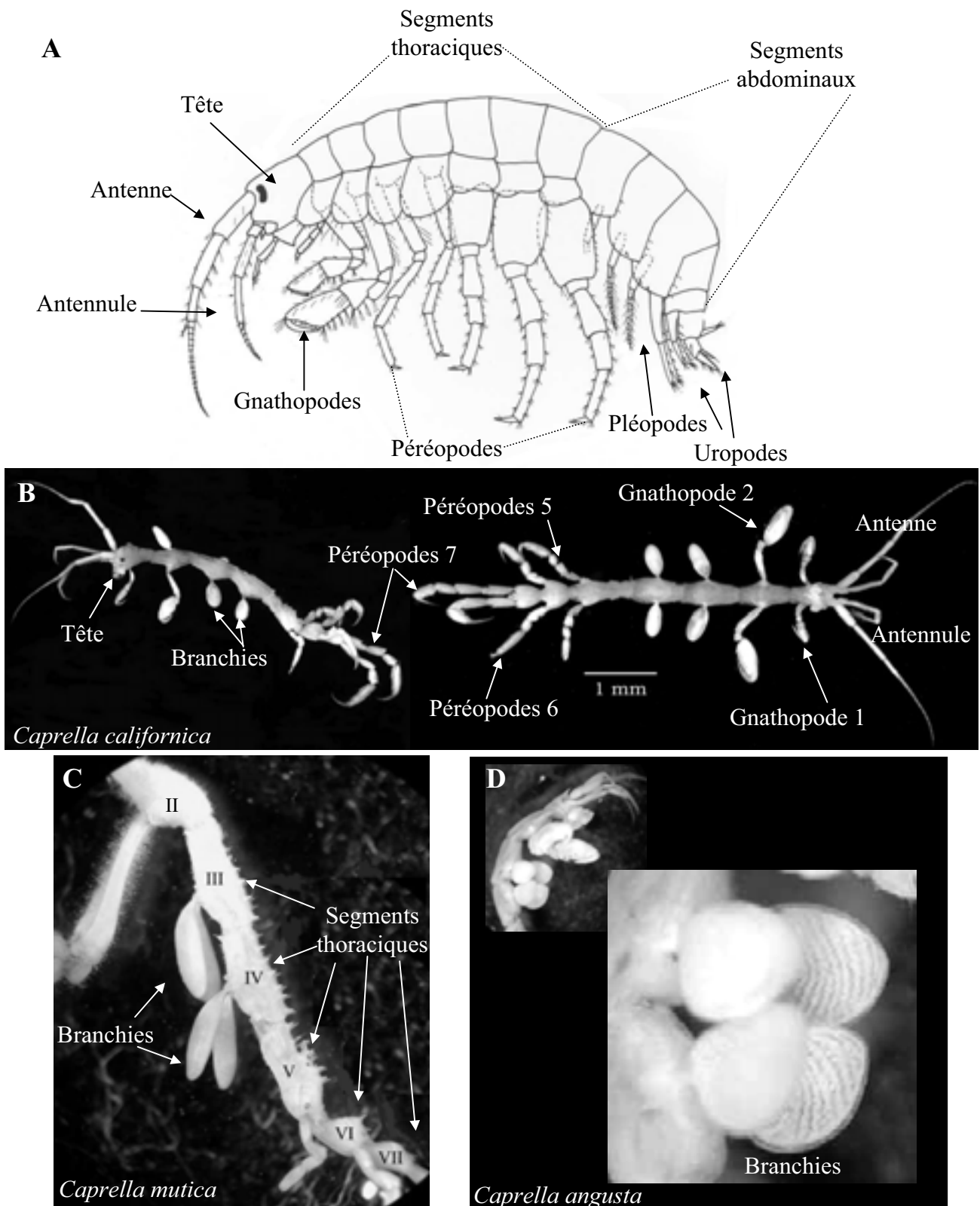


Figure 14 : Anatomie des amphipodes et caprellidés. **A-** Anatomie d'un amphipode Gammaridés. **B-C-D** Anatomie d'amphipodes Caprellidés, genre *Caprella*. A noter que la grande différence morphologique entre les Gammaridés, qui servent de référence anatomique dans le groupe des amphipodes, avec celle des caprellidés. Photos site web <http://www.calacademy.org>.

- les péreopodes 5, 6 et 7 sont souvent allongés et caractéristiques du mode d'attachement des caprellidés sur leur substrat (végétaux, animaux ou sédiment)
- deux paires de branchies sont décrites, positionnées au niveau des segments thoraciques 3 et 4.

Ces formations anatomiques sont des sortes de pédoncules de taille réduites correspondant à des lobes de formes allongées ou en palettes (Fig. 14D). Nous n'avons pu trouver aucune étude de type physiologie respiratoire chez ces animaux bien que leur anatomie et leur mode de vie soient comme nous l'avons déjà souligné, des plus originaux.

III – ELEMENTS DE PHYSIOLOGIE RESPIRATOIRE

1 – Notions de base

Les gaz respiratoires

Les gaz respiratoires, oxygène (O₂) et dioxyde de carbone (CO₂) représentent respectivement 20.95 % et 0.03 % de l'air que nous respirons. Pour quantifier les gaz présents dans un liquide, on utilise à la fois les concentrations et les pressions partielles. La pression partielle (P) d'un gaz est définie par la loi de Dalton selon laquelle la pression totale d'un mélange de gaz est égale à la somme des pressions partielles que chaque gaz exercerait s'il occupait seul le volume dans lequel le mélange est confiné. Cette notion de pression partielle est très importante car tous les transferts diffusifs des gaz (*voir fonction respiratoire*) suivent des gradients de pressions partielles et non pas des gradients de concentration (C). La dissolution de l'oxygène dans l'eau est régie par la loi de Henry, selon laquelle la concentration du gaz dissous (CO₂) est directement proportionnelle à la pression partielle.

(*équation 1*) $CO_2 = PO_2 \cdot \alpha_{O_2}$ avec α_{O_2} le coefficient de solubilité de l'oxygène

Le coefficient de proportionnalité est le coefficient de solubilité (α) du gaz. Sa valeur varie en fonction de la température et de la salinité de l'eau (une augmentation de température ou de salinité diminue la solubilité de l'oxygène).

La fonction respiratoire

L'accessibilité permanente à l'oxygène, à des pressions partielles bien définies, est une priorité pour les organismes utilisant le métabolisme aérobie et pour leurs cellules. Du milieu ambiant jusqu'à la cellule, le flux d'oxygène dépend de gradients successifs de pression (chute de la pression du gaz d'un compartiment à l'autre) et des débits d'eau ventilés. Chez les organismes unicellulaires et pluricellulaires de petites tailles, la respiration peut s'effectuer par simple diffusion alors que chez les animaux de grandes tailles, elle nécessite un ensemble de structures et de mécanismes de transfert complexes. Dans ce travail, nous avons étudié comment ces transferts étaient organisés et réglés chez les ostracodes (taille ≈ 1 mm) et un caprellidé profond (taille ≈ 1.5 cm, diamètre ≈ 0.5 mm) pour lesquels les mécanismes de transfert peuvent être qualifiés de "primitifs" ou de "simples". La fonction respiratoire assure le

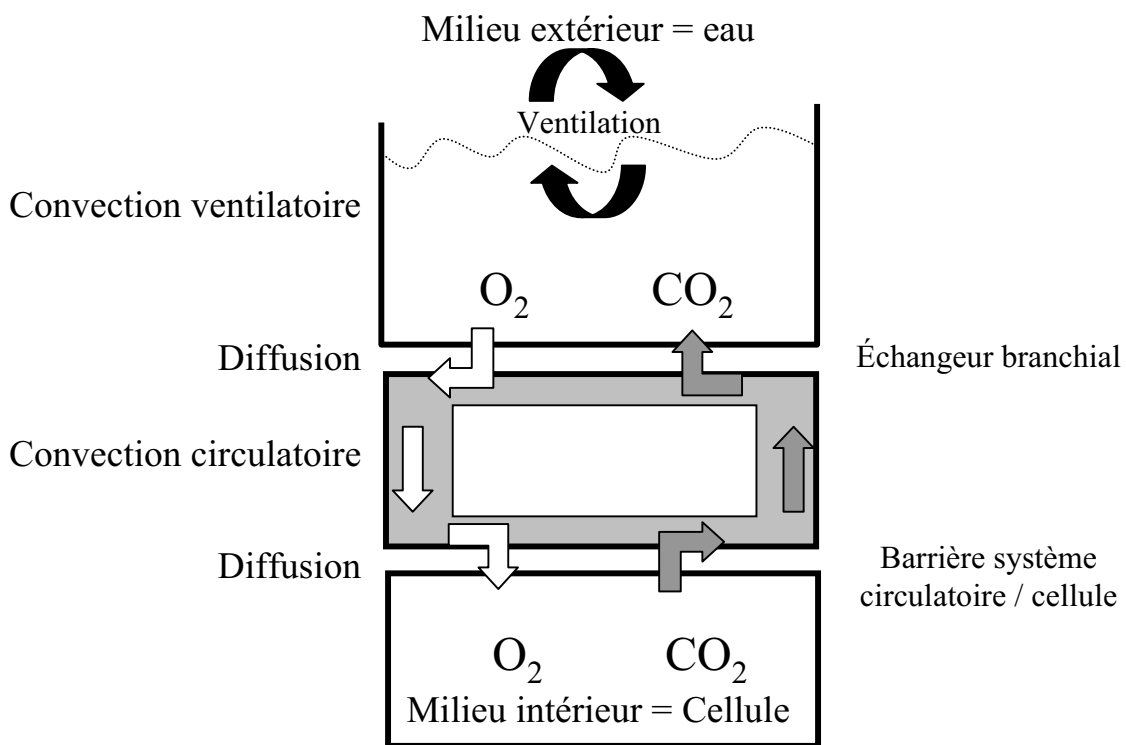


Figure 15 : Principales étapes de la fonction respiratoire chez un organisme aquatique. L'oxygène et le dioxyde de carbone traversent les différents compartiments qui séparent le milieu extérieur (eau) de la cellule en suivant des gradients de pression partielle (d'après Dejours, 1981).

transfert d'O₂ et de CO₂ entre le milieu ambiant et la cellule. Ce transfert peut se résumer selon quatre étapes (Dejours, 1981 ; Fig. 15) :

- 1- une étape de convection ventilatoire qui assure le renouvellement du milieu extérieur sur l'échangeur respiratoire
- 2- une première étape de diffusion des gaz à travers l'épithélium respiratoire vers le sang (O₂)
- 3- une étape de convection circulatoire, qui assure le transfert entre l'échangeur respiratoire et la cellule (les gaz étant dissous ou liés à un pigment respiratoire, l'hémocyanine chez les crustacés, l'hémoglobine chez les mammifères)
- 4- une deuxième étape de diffusion entre le sang capillaire et la cellule (O₂) ou la cellule et le sang veineux (CO₂).

Concept d'homéostasie

Claude Bernard (1813-1878) : pionnier français de la physiologie moderne met en évidence l'importance du maintien de la stabilité du milieu intérieur pour le fonctionnement des animaux en évoquant " leur capacité à survivre dans des environnements stressants et variables symbolisant directement leur capacité à maintenir un environnement interne stable". Le terme « homéostasie » sera introduit en 1929 par Walter Cannon (1871-1945, prix Nobel): l'homéostasie définit les conditions de relative stabilité interne maintenue par des systèmes de contrôles physiologiques.

L'homéostasie et oxygénation du milieu intérieur : En physiologie de la respiration, depuis plusieurs années il a été démontré qu'il existe chez les animaux aquatiques, marins ou d'eau douce appartenant aux crustacés, poissons ou mollusques, une stratégie adaptative qui consiste à régler les pressions partielles d'oxygène, PO₂, dans le sang artériel à des valeurs faibles, de l'ordre de 1 à 3 kPa* (Massabuau et Burtin, 1984 ; Forgue *et al.*, 1989, 1992 ; Massabuau *et al.*, 1991, Tran *et al.*, 2000 ; Massabuau, 2001, 2003). Par comparaison ces valeurs dans les cellules de mammifères sont aussi de l'ordre de 1-3 kPa (Massabuau, 2001). Chez l'animal aquatique, ces faibles valeurs de PO₂ artériel sont maintenues constantes dans une large gamme d'oxygénation de l'eau allant de l'hypoxie (PO₂ = 3kPa, [O₂] = 1,5 mg/l) à

* kPa : kilopascal (unité de pression des gaz). Pour rappel une pression d'oxygène de 1 kPa correspond à une concentration d'oxygène de $\approx 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ à 15 °C dans l'eau et une fraction d'O₂ $\approx 1 \%$

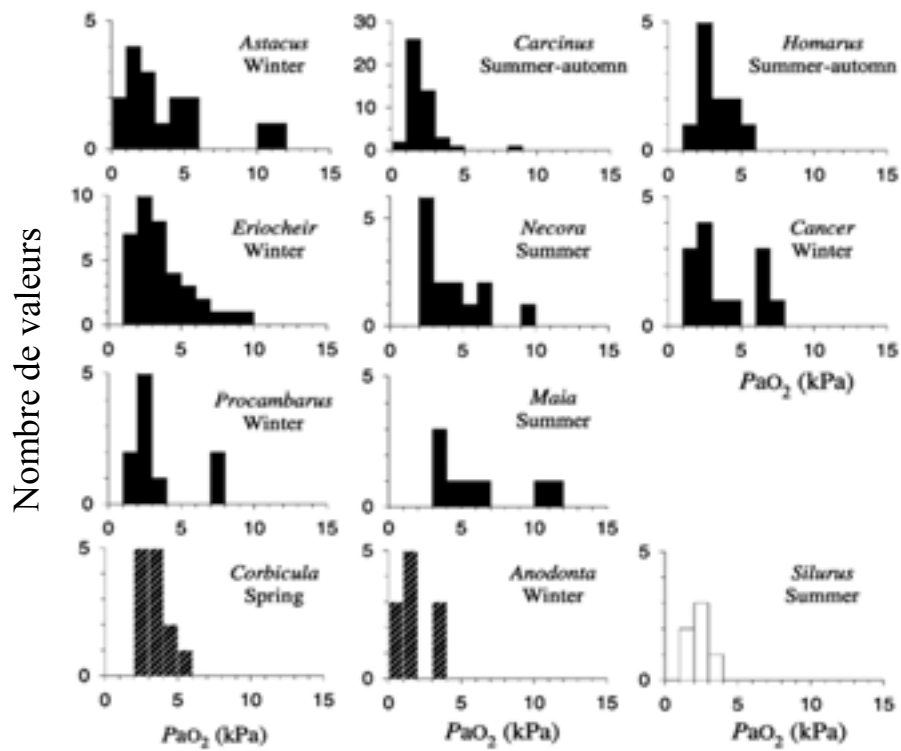


Figure 16 : Distribution des fréquences de pression en oxygène artérielle (PaO_2 , kPa) chez différents animaux aquatiques à 21 kPa (P_{CO_2} inspirée = 0,1 kPa ; $T = 13-15$ °C). Pour toutes les espèces, la distribution des fréquences mesurées est comprise entre 1 et 3 kPa. (Forgue et al., 1992).

l'hyperoxie ($PO_2 = 40$ kPa, $[O_2] = 20$ mg/l). Elles correspondent en fait à une valeur contrôle qui joue un rôle clef dans le maintien de la consommation d'oxygène et des différents aspects du métabolisme cellulaire (Vanderkooi, et al., 1991) contribuant ainsi à l'homéostasie du milieu intérieur, face aux variations des conditions d'oxygénation de l'eau. Cette principale adaptation permet à l'animal aquatique de maintenir ainsi constante, l'homéostasie de son milieu intérieur par un ajustement ventilatoire jouant un rôle essentiel. Ainsi lorsque la pression partielle d' O_2 diminue dans l'environnement, l'activité ventilatoire augmente de manière à maintenir dans la ou les cavités branchiales un gradient d'oxygénation suffisant pour assurer un flux d'oxygène constant dans l'animal. De même, dans un milieu hyper-oxygéné, l'activité ventilatoire diminue de façon à éviter la suroxygénation du milieu intérieur. Cette adaptation ventilatoire permet d'amener une quantité d'oxygène constante à la surface de l'échangeur gazeux, limitant ainsi la chute du gradient de pression entre l'eau et le sang. La ventilation des animaux aquatiques semble être contrôlée par un mécanisme analogue à celui des vertébrés aériens. Des chémorécepteurs sensibles à l'oxygène ont été mis en évidence chez les poissons (Eclancher, 1972) ainsi que chez les crustacés (Massabuau et al., 1980 ; Ishii et al., 1989). Ce n'est que lorsque l'efficacité de cette étape ventilatoire devient insuffisante que l'on observe une adaptation du système circulatoire sanguin liée aux caractéristiques de transport des pigments respiratoires (augmentation de l'affinité des pigments) et ensuite un ajustement du débit cardiaque.

Aujourd'hui, chez les animaux aquatiques, ce concept d'homéostasie du milieu intérieur à des faibles pressions partielles d' O_2 , indépendant d'une large variation de l'oxygénation de l'eau, est visiblement applicable pour un très grand ensemble d'espèces (Fig. 16), d'eau douce ou marines quels que soient la saison, la température (entre 8 à 23°C), le type de branchie, de pompe ventilatoire et de système circulatoire (ouvert ou fermé). L'absence ou la présence de pigment respiratoire et son niveau d'affinité n'ont pas non plus d'influence (Forgue *et al.*, 1992).

Chez les animaux aquatiques (animaux à sang froid) qui présentent la stratégie des faibles oxygénations, la pression partielle d'oxygène du sang artériel ($\approx 1-3$ kPa) est cinq à dix fois plus faible que chez l'homme ($\approx 10-14$ kPa ; Dejours, 1981), mais il est remarquable de voir qu'il existe une analogie avec les valeurs d'oxygénation dans nos cellules et tissus. En effet, la pression partielle d'oxygène dans le milieu extracellulaire et les cellules des mammifères est toujours très faible mais surtout demeure dans la même gamme que celle du

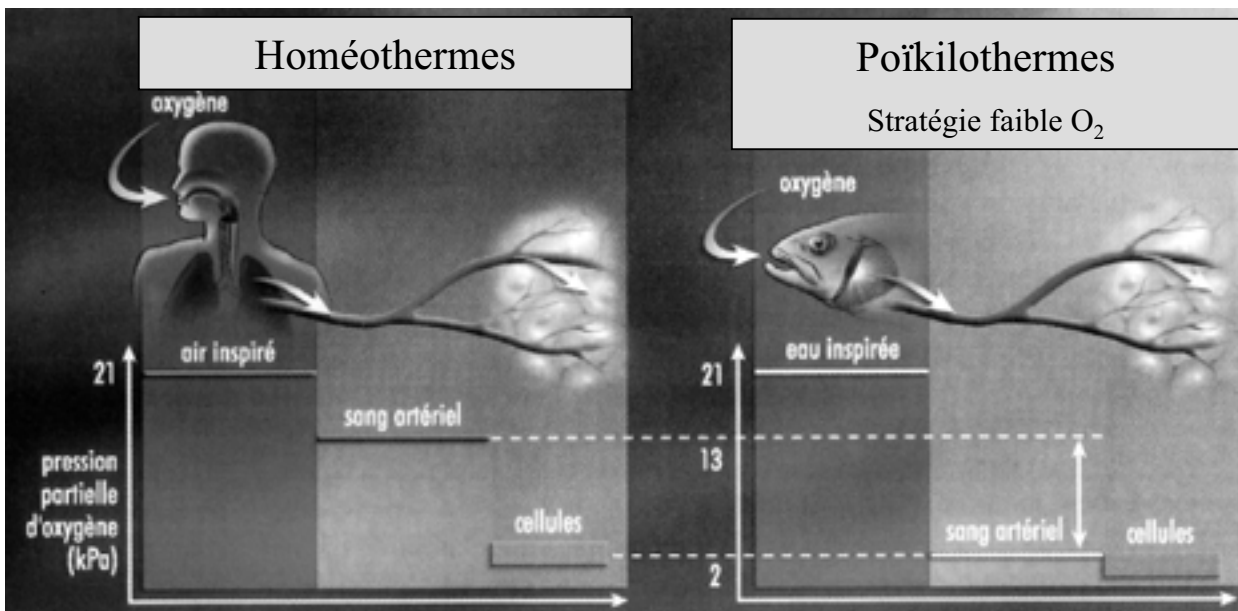


Figure 17: Chez les animaux qui présentent la stratégie des faibles oxygénations (animaux à sang froid), la pression partielle d'oxygène du sang artériel est cinq à dix fois plus faible que chez l'homme, mais analogue à la valeur dans nos cellules et tissus. Les animaux aquatiques étant un intermédiaire dans l'évolution animale, l'idée d'un continuum respiratoire maintenu au niveau cellulaire a germé. (Massabuau et Klingler, 2002).

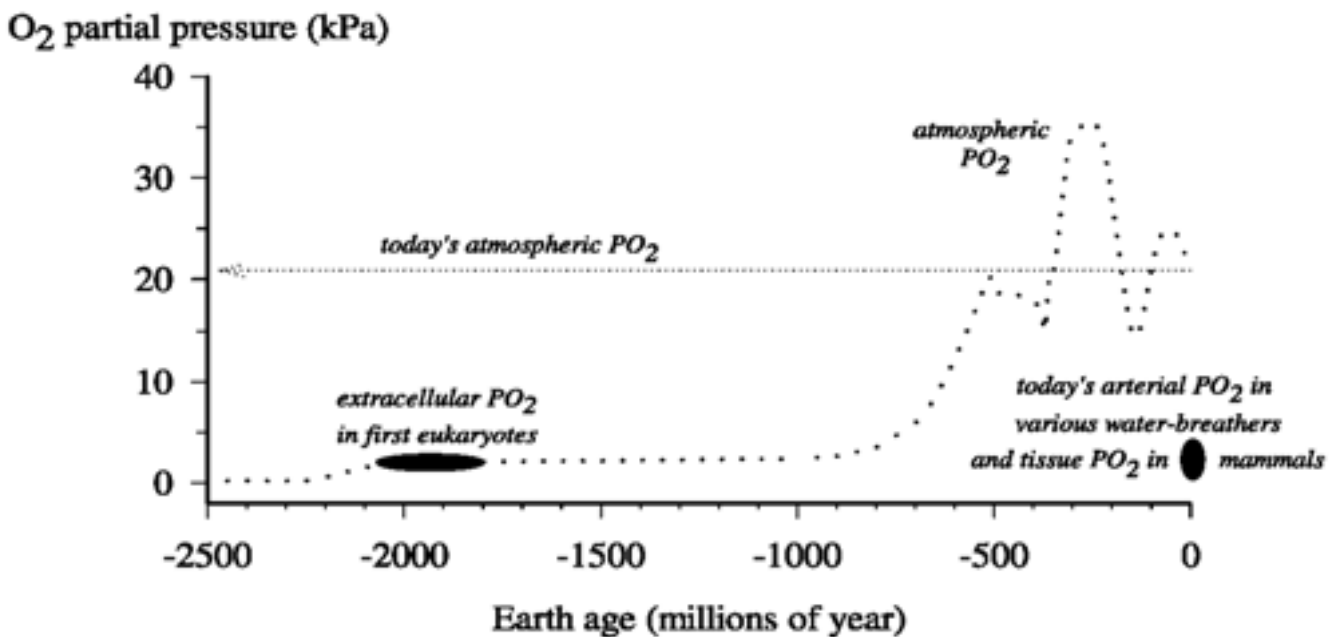


Figure 18: Relation de l'évolution de l'oxygène et de la vie animale sur Terre. Lorsque les organismes unicellulaires sont apparus, la pression partielle d' O_2 (PO_2) dans l'atmosphère était très faible. Aujourd'hui, PO_2 dans le sang des animaux aquatiques et le tissu des mammifères est tout aussi faible. Les premiers ostracodes sont apparus il y a environ 500 millions d'années à une époque où PO_2 était compris entre 3 et 6 kPa. (Massabuau, 2001).

sang artériel des animaux aquatiques (Fig. 17). Les animaux aquatiques étant un intermédiaire dans l'évolution animale, l'idée d'un continuum respiratoire maintenu au niveau cellulaire a germé.

Homéostasie et Evolution: Le concept de maintien du milieu intérieur à des valeurs faibles et constantes présent chez de nombreux animaux aquatiques ou aériens peut être englobé sous le terme de stratégie des faibles oxygénations du milieu intérieur (Massabuau, 2001, 2003). Pourquoi ces faibles valeurs d'oxygène ? Il est sans doute possible de lier ces valeurs avec la toxicité cellulaire de l'oxygène et la production de radicaux libres ainsi qu'avec le rôle de l'oxygène comme second messager, substrat limitant, neuromodulateur etc.

Mais la stratégie des faibles oxygénations du milieu intérieur peut être également intégrée dans une perspective évolutive. En effet, les premières cellules se seraient développées dans de faibles conditions d'oxygénation. L'hypothèse est, qu'en parallèle à l'augmentation de l'oxygène sur terre (Fig. 18), les organismes se seraient complexifiés, développant ainsi des structures spécialisées dans la respiration comme les branchies ou encore de systèmes circulatoires, pour maintenir ces faibles PO_2 originelles. Les faibles valeurs d'oxygénation du milieu intérieur retrouvées dans les animaux actuels tant aquatiques qu'aériens pourraient donc être une constante héritée du passé, lors de la mise en place des premières structures cellulaires. C'est à partir de ce concept original et global que nous avons abordé l'étude de la physiologie respiratoire des ostracodes podocopes et mydocopes, *qui comme nous l'avons vu dans le paragraphe I2, ne semblent avoir que peu ou pas évolués depuis 500 MA. Nous avons voulu tester ces hypothèses en étudiant les mécanismes d'adaptation physiologique mis en jeu par les ostracodes, crustacés primitifs (Chapitres 3 4 et 6) en nous basant sur la stabilité évolutive du groupe au cours du temps. C'est aussi à partir de ce concept que nous avons abordé notre analyse de l'amphipode caprellidé Parvipalpus major en essayant de comprendre comment il pouvait régler ses échanges gazeux avec quatre minuscules branchies vestigiales externes (Chapitre 5).*

2 – Eléments de physiologie respiratoire chez les crustacés décapodes, crabe et écrevisse

Que peut-on dire des mécanismes de régulation de la fonction respiratoire et ventilatoire chez les crustacés décapodes, groupe longuement étudié ? Chez les crabes, écrevisses et autres décapodes actuels, la respiration est gérée par un ensemble d'équipements physiologiques permettant l'efficacité de l'approvisionnement en oxygène vers les cellules. Ces crustacés possèdent une paire de scaphognathites, des branchies et un système

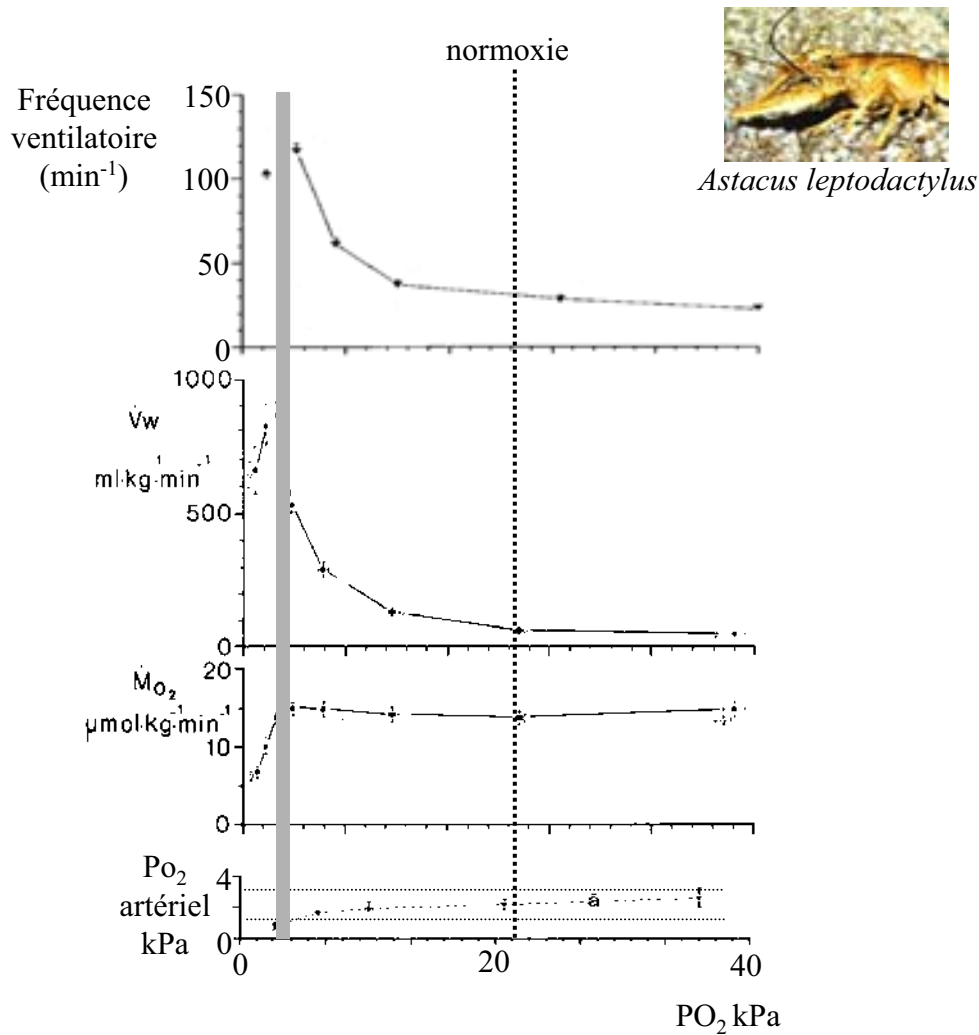


Figure 19 : Capacités d'adaptation ventilatoire chez l'écrevisse *Astacus leptodactylus* (Massabuau et Burtin, 1984). Il y a hyperventilation quand PO_2 dans l'eau diminue jusqu'à un seuil critique < 1 kPa (bande grise). Grâce à cette adaptation ventilatoire, la consommation d'oxygène (MO_2) reste constante ainsi que PO_2 dans le sang artériel.

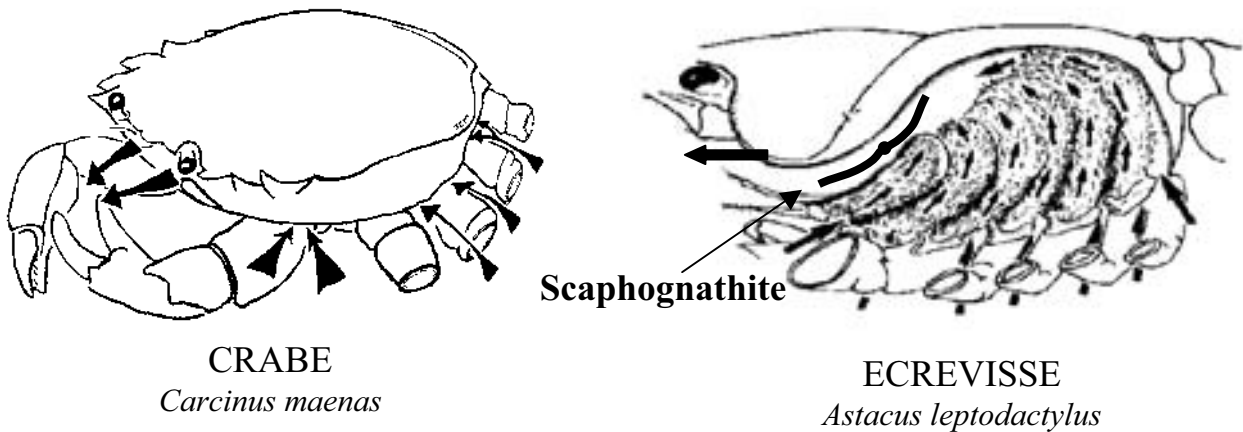


Figure 20 : Circulation de l'eau lors de l'étape de la ventilation chez le crabe vert et l'écrevisse.

circulatoire. L'ensemble des étapes de la fonction respiratoire décrites plus haut est présent chez ces crustacés. Nous allons détailler ces étapes ainsi que les mécanismes adaptatifs mis en jeu dans le maintien du milieu intérieur. La figure 19 résume les mécanismes de maintien du milieu intérieur au cours des différentes étapes de transfert de l'oxygène vers les cellules chez l'écrevisse *Astacus leptodactylus*, lorsque l'oxygénation de l'eau varie.

Le bilan du flux d'oxygène ayant traversé une succession d'étapes correspond à la consommation d'oxygène, $\dot{M}O_2$, décrit par la mise en équation théorique de chaque étape (Fig. 15, Dejours, 1981) :

1- étape ventilatoire

$$\text{(équation 2)} \quad \dot{M}O_2 = \dot{V}_W \cdot \alpha_{wO_2} (P_{IO_2} - P_{EO_2})$$

2- première étape de diffusion

$$\text{(équation 3)} \quad \dot{M}O_2 = G_{GO_2} (P_{GO_2} - P_{bO_2})$$

3- étape circulatoire

$$\text{(équation 4)} \quad \dot{M}O_2 = \dot{V}_b \cdot \beta_{bO_2} (P_{aO_2} - P_{vO_2})$$

4- seconde étape de diffusion

$$\text{(équation 5)} \quad \dot{M}O_2 = G_{tO_2} (P_{c'O_2} - P_{tO_2})$$

et selon la nature du tissu considéré :

$$\text{(équation 6)} \quad G_{O_2} = S \cdot 1/E \cdot K_{O_2}$$

S : la surface de l'échangeur

E : l'épaisseur de l'échangeur

K_{O_2} : la constante de diffusion de Krogh pour l'oxygène définie selon la nature du tissu de l'échangeur

Ces équations montrent que la consommation d'oxygène dépend de paramètres multiples : débit d'eau ventilée (ou débit ventilatoire, \dot{V}_W), PO_2 dans l'eau inspirée (P_{IO_2}) et expirée (P_{EO_2}), PO_2 à la surface des branchies (P_{GO_2}), conductance diffusible de l'oxygène dans la branchie (G_{GO_2}), débit cardiaque (\dot{V}_b), capacité du sang pour l'oxygène (β_{bO_2} , prend compte de la solubilité de l' O_2 dans le sang et des caractéristiques du pigment respiratoire) et conductance diffusible des tissus (G_{tO_2}).

La ventilation : c'est la première étape de convection (Fig. 20). L'eau pénètre dans la cavité branchiale grâce aux mouvements des scaphognathites. Chez le crabe *Carcinus maenas* (Fig. 20), l'eau entre dans chaque chambre branchiale principalement par l'orifice de Milne

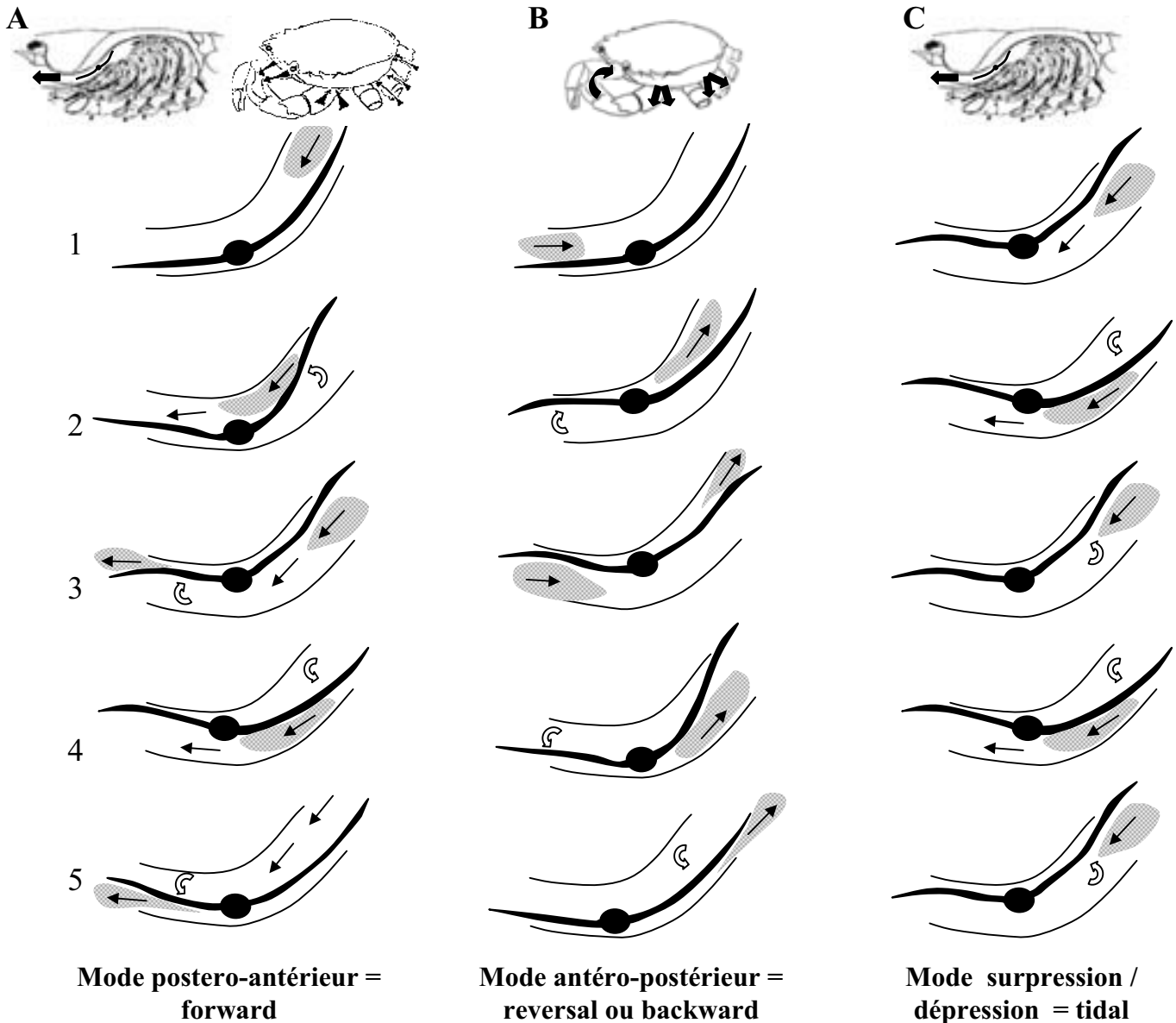


Figure 21 : 3 modes de fonctionnement des scaphognathites chez le crabe vert et l'écrevisse. Les étapes sont décrites de 1 à 5. **A**- Mode forward chez le crabe et l'écrevisse. **B**- Mode reversal chez le crabe. **C**- Mode tidal chez l'écrevisse. Les flèches blanches indiquent les mouvements du scaphognathite, les flèches indiquent le sens d'écoulement de l'eau.

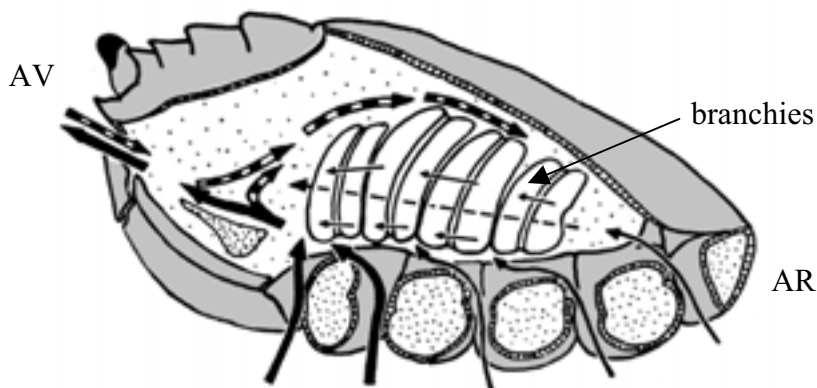


Figure 22 : Circulation de l'eau dans la cavité branchiale du crabe *Carcinus maenas* selon deux modes de ventilation : mode forward (flèches noires) et mode reversal (flèches hachurées). D'après Arudpragasam et Naylor, 1964).

Edward à la base des chélipèdes et ressort à l'avant de l'animal, de part et d'autre de l'orifice buccal (Hughes et al., 1969). Chez l'écrevisse *Astacus leptodactylus*, le mécanisme est similaire : l'eau pénètre à la base de la cavité branchiale, passe le long des branchies et ressort à l'avant de l'animal au niveau du canal de l'hydrostome. Le débit ventilatoire est imposé par le battement des scaphognathites. Comme décrit précédemment dans le paragraphe concernant l'homéostasie, crabes et écrevisses sont capables d'ajuster leur ventilation quand les conditions d'oxygénation de l'eau varient (Figs. 19, 20) : l'augmentation du débit ventilatoire lors de la diminution de l'oxygène dans l'eau inspirée (hypoxie < 21 kPa*) est obtenue par l'augmentation du nombre de battements des scaphognathites. Le phénomène inverse se produit dans le cas d'une hyperoxie (> 21 kPa) dans l'eau.

La figure 21 (d'après Massabuau, 1984) schématise le fonctionnement des scaphognathites dans les cavités branchiales de crustacés tels que *A. leptodactylus* et *C. maenas*. Ce sont les mouvements du scaphognathite qui imposent le sens de circulation de l'eau : le scaphognathite est en position basse dans le canal de l'hydrostome (Fig. 21A-1), la partie postérieure s'élève créant ainsi une dépression (Fig. 21A-2), la masse d'eau isolée est ensuite expulsée vers la sortie du canal quand la partie antérieure s'élève à son tour (Fig. 21A-3), la postérieure s'abaisse recréant alors une dépression (Fig. 21A-4) et isolant une nouvelle masse d'eau qui sera ensuite chassée à l'extérieur lorsque la partie antérieure s'élèvera à nouveau (Fig. 21A-5) et ainsi de suite. Le sens de circulation de l'eau dans la chambre branchiale s'effectue dans de nombreux cas d'arrière en avant (mode postéro-antérieur ou mode forward; Fig. 21A) que ce soit pour le crabe ou l'écrevisse. Néanmoins il est possible d'observer un mode de ventilation inverse, d'avant en arrière (mode antéro-postérieur ou mode reversal ; Fig. 21B). Chez le crabe *C. maenas*, ce mécanisme est décrit comme utile à l'animal pour nettoyer ses branchies. Enfin, l'écrevisse *A. leptodactylus*, même si elle ne pratique pas le mode reversal, est capable d'effectuer un mode de ventilation particulier en maintenant active que la partie postérieure du scaphognathite (mode tidal Fig. 21C ; Massabuau, non publié).

Dans la littérature, le crabe *Corystes cassivelanus* est décrit comme pratiquant de manière prédominante le mode de ventilation reversal (Fig. 22 ; Arudpragasam et Naylor, 1966). Ce crabe vit enfoui dans le sable et pratique alors les deux modes de ventilation avec une ventilation de fond en mode reversal entrecoupée par des séquences en mode forward.

* La pression barométrique au niveau de la mer est sensiblement égale à 1000 hPa (100 kPa). La fraction d'oxygène dans l'air étant 21%, la pression partielle d'O₂ dans l'air ou dans une eau équilibrée à l'air est de 21 kPa.

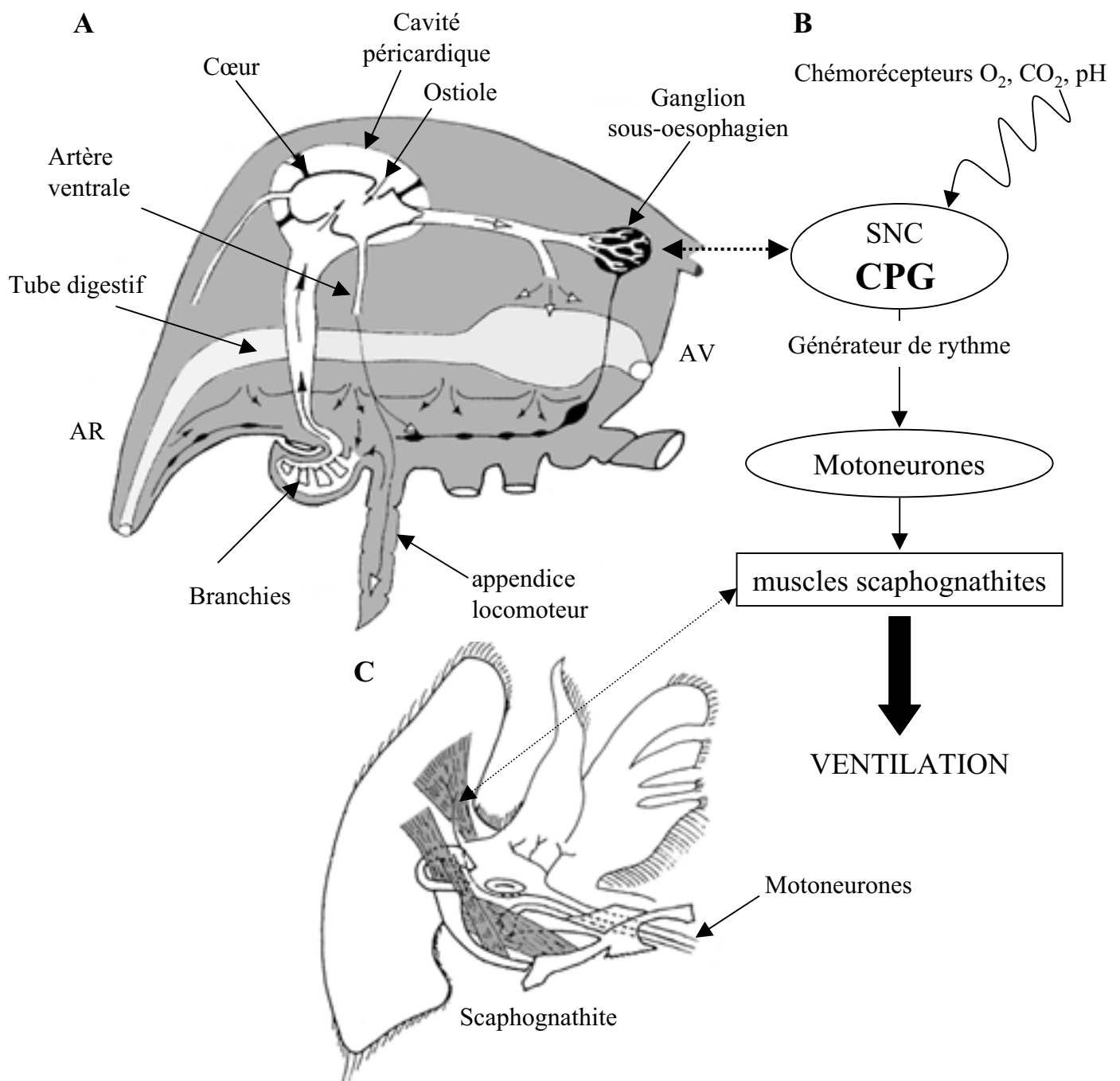


Figure 23 : Schéma de principe des mécanismes de contrôle de la ventilation chez le crabe *Carcinus maenas*. **A**- Organisation interne avec positionnement des principaux organes (cœur, branchies, système nerveux) **B**- Principales étapes de l'action des CPG sur la ventilation. **C**- Scaphognathite avec mise en évidence des principaux muscles et de leur innervation. D'après Taylor (1982).

Néanmoins, cet exemple de ventilation en reversal reste un cas particulier car même si certains décapodes sont capables de pratiquer ce mode de ventilation, il n'en reste pas moins que la ventilation en mode forward demeure la manière la plus efficace pour ventiler la cavité branchiale comme le décrit la figure 22 (Arudpragasam et Naylor, 1964).

Genèse du rythme ventilatoire (Fig. 23): chez *Carcinus maenas*, 5 muscles éleveurs et 5 muscles dépresseurs produisent les mouvements des scaphognathites (Taylor, 1982). L'activité ventilatoire résulte de mécanismes simples mettant en jeu deux types de muscles éleveurs et dépresseurs engendrant les battements des scaphognathites. Cette activité rythmique est générée par un générateur central de pattern (CPG) capable à lui seul de programmer cette séquence motrice. Ce CPG se situe au niveau du système nerveux central et met en jeu un ensemble de neurones moteurs (Simmers et Bush, 1983). Les motoneurones ventilatoires sont gérés par un générateur de rythme (rythme de la ventilation) composé par des interneurones oscillants inexcitables (sans potentiel d'action) jouant un rôle de pacemaker au sein du réseau. Les interneurones du générateur de la ventilation assurent l'activité rythmique des motoneurones non pas par excitation des motoneurones mais par inhibition périodique. Ces centres respiratoires sont localisés au niveau du ganglion sous-œsophagien.

Les scaphognathites du crabe, comme décrit précédemment, peuvent assurer la circulation de l'eau dans la cavité branchiale de deux manières différentes (mode forward et mode reversal). L'ensemble des 10 muscles du scaphognathite est commandé par deux groupes de motoneurones : le premier groupe contrôle la ventilation en mode forward tandis que le second groupe gère la ventilation en mode reversal. Lorsque l'un des deux modes de ventilation s'exprime, les motoneurones concernant l'autre mode de ventilation sont silencieux. L'adaptation ventilatoire exprimée par l'ajustement de la ventilation est dépendante d'une chémo-sensibilité à l'O₂ et au CO₂ (Fig. 24 Massabuau et al., 1981 ; 1985). Chez les crustacés, les chémorécepteurs sensibles à l'oxygène sont localisés au niveau des branchies (sur la voie artérielle, Ishii et al, 1989). Ces chémorécepteurs ont une action directe sur les centres respiratoires.

La diffusion branchiale : c'est la première étape de diffusion. L'oxygène présent dans l'eau circulant dans la cavité branchiale diffuse le long des filaments branchiaux et franchit la barrière épithéliale des branchies pour se retrouver dans le système hémolympatique. Cette étape de diffusion de l'oxygène à travers les branchies est dépendante de l'épaisseur et de la surface de la barrière épithéliale. Les branchies des crustacés présentent une surface

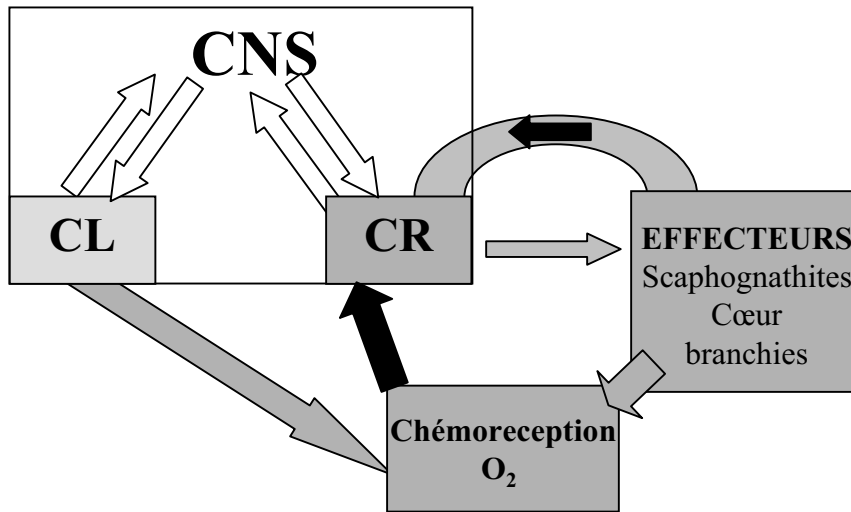


Figure 24 : Schéma de principe de la boucle de régulation de la fonction respiratoire chez les crustacés décapodes (crabes et écrevisses). CNS, Centres Nerveux Supérieurs ; CL, Centres locomoteurs; CR, Centres respiratoires. Les centres locomoteurs sont inclus dans ce schéma car l'évitement (déplacement par locomotion) est ici considéré comme faisant partie intégrante de la stratégie adaptative face à des changements de la composition en gaz respiratoire du milieu.

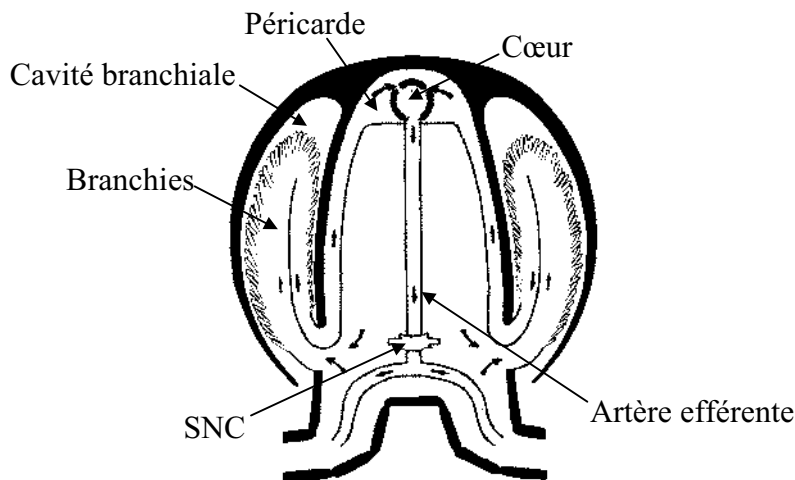


Figure 25 : Représentation schématique de l'appareil circulatoire chez l'écrevisse *Astacus leptodactylus* (Massabuau et al., 1981).

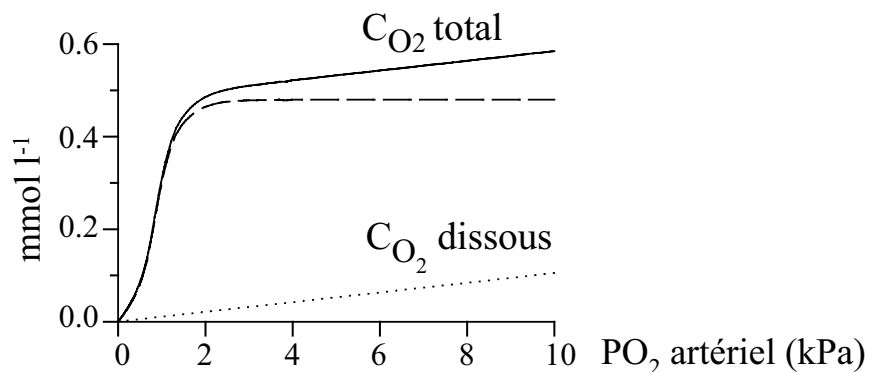


Figure 26 : Concentration totale de l'oxygène dans le sang. C_{O₂} total est la somme des concentrations d'oxygène dissous (C_{O₂} dissous) et d'oxygène fixé à la molécule d'hémocyanine (HcO₂). L'intérêt du pigment peut être facilement illustré à Pao₂ = 2 kPa. Sans pigment seulement 0,02 mmol l⁻¹ d'oxygène peut être transporté sous forme dissous. En présence du pigment, la concentration totale d'O₂ dans le sang s'élève à 0,5 mmol l⁻¹ (0,48 mmol l⁻¹ fixée à l'hémocyanine et 0,02 mmol l⁻¹ dissous). (Valeurs chez *C. maenas*, Truchot 1971).

d'échange importante et une faible épaisseur de tissus (épaisseur = 2 μm par exemple chez *Carcinus maenas*). L'ensemble de ces caractéristiques favorise la diffusion de l'oxygène et l'efficacité extraction de l'oxygène dans l'eau peut atteindre un coefficient d'extraction de 90 % pour les branchies de l'écrevisse (Massabuau, 1983).

La circulation sanguine : c'est la seconde étape de convection. L'oxygène se trouve alors dissous dans le système hémolympatique. L'appareil circulatoire des crustacés décapodes est un système ouvert où l'hémolymphe, propulsée par le cœur dans les artères puis les capillaires, est finalement collectée dans des sinus veineux après avoir irrigué les tissus. Les sinus ramènent ensuite le sang aux branchies où il est hématosé avant de retourner dans le péricarde (Fig. 25). Le sang de la majorité des décapodes est doté d'un pigment respiratoire : l'hémocyanine. Cette protéine a une structure de base monomérique dont le poids moléculaire est d'environ 75 kDa. Chaque monomère comporte un site actif composé de 2 atomes de cuivre capables de fixer réversiblement une molécule d'oxygène. Cette relation est décrite par une courbe de dissociation qui présente les variations de la fraction oxygénée du pigment en fonction de la pression partielle d'oxygène dans le sang. La figure 26 montre l'importance du pigment dans le transport de l'oxygène puisque pour une pression partielle donnée il permet de transporter jusqu'à 20 fois plus d'oxygène que sous la forme dissoute. De nombreuses études ont montré que l'affinité du pigment respiratoire des décapodes dépend de nombreux paramètres : le pH (Truchot, 1971), certains ions inorganiques (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Truchot, 1975, Mason et al., 1983) et des facteurs environnementaux (température, salinité, Truchot, 1973, Taylor et al., 1985).

La diffusion cellulaire : c'est la seconde et dernière étape de diffusion. L'oxygène sous forme dissoute est alors présent dans le sang à une pression partielle de 1-3 kPa (Massabuau, 2001). La diffusion se fait à travers les parois des capillaires, la lymphe, la membrane cellulaire et enfin la membrane mitochondriale. Les mitochondries représentent au niveau de la cellule le site principal d'utilisation de l'oxygène dans la cellule, puisque 90 % de l'oxygène est consommé à leur niveau. La cascade de pressions partielles en oxygène s'achève ainsi au niveau de la mitochondrie, organe clef du métabolisme oxydatif.

3 – Eléments de physiologie respiratoire chez les ostracodes

Contrairement aux crustacés décapodes, les ostracodes ne présentent pas d'homogénéité au niveau de la construction et de la complexité de leurs appareils

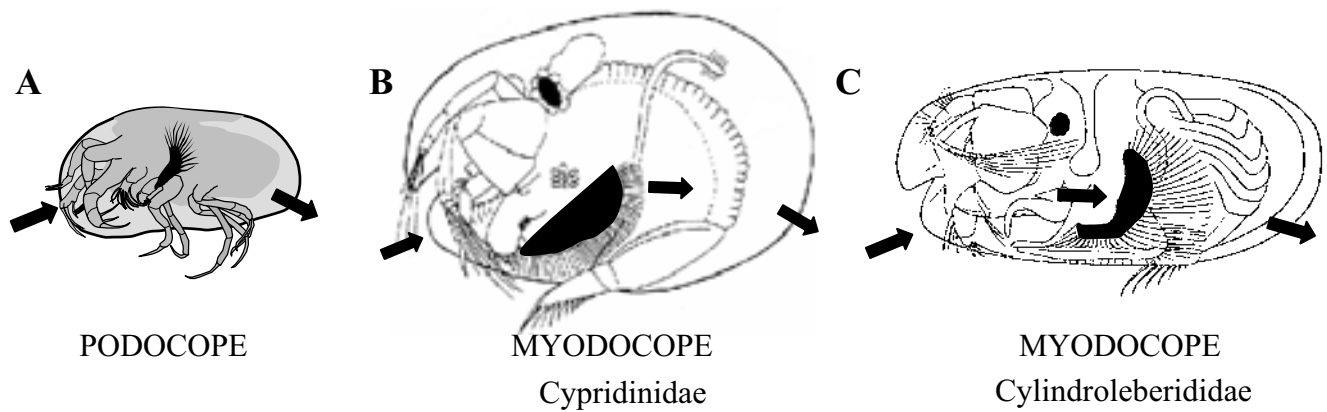


Figure 27 : Trois principaux exemples de la respiration chez les ostracodes. Les flèches noires indiquent le sens de circulation de l'eau entre les valves. **B-** Inspiré de Vannier et al., 1998. **C-** Inspiré de Cannon, 1933. Les scaphognathites sont les appendices en noir.

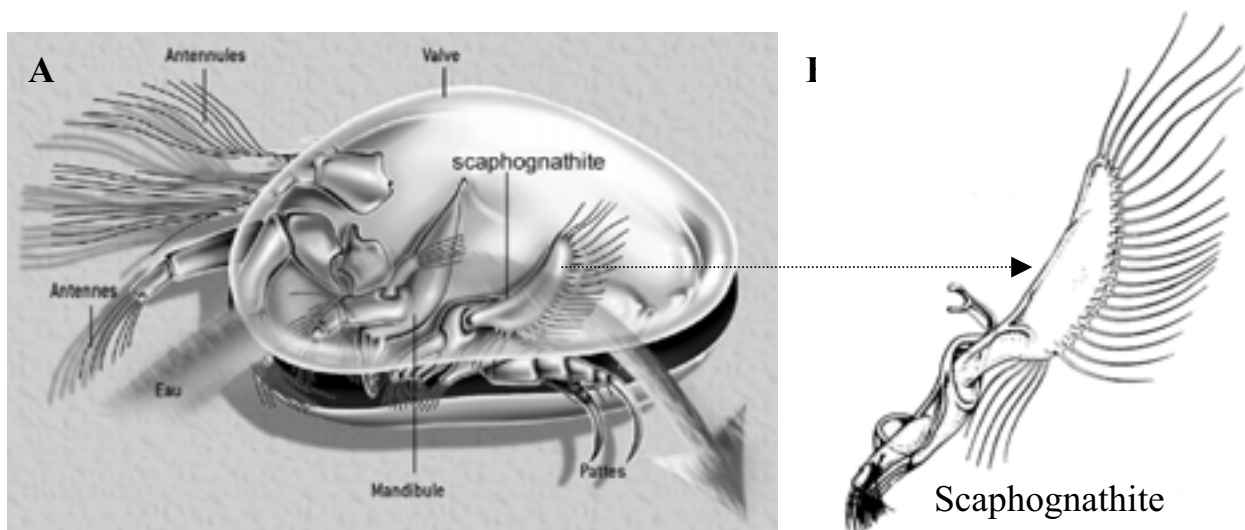


Figure 28: L'étape ventilatoire chez les podocopes. **A-** Organisation générale (Corbari et Massabuau, 2004). **B-** Détail du scaphognathite (Van Morkoven, 1962).

respiratoires. De ce fait le transfert de l'oxygène vers les cellules se présente de différentes manières selon les groupes d'ostracodes.

Au moins, trois cas de figures peuvent se présenter :

- présence d'un système ventilatoire (scaphognathites) sans système branchial et circulatoire (ni cœur ni vaisseaux) : ce sont les podocopes (Fig. 27A).
- présence d'un système ventilatoire (scaphognathites) avec un système circulatoire (cœur et vaisseaux) mais sans branchies : c'est le cas par exemple des myodocopes Cypridinidae, ce sont les myodocope sans branchies (Fig. 27B).
- présence d'un système ventilatoire (scaphognathites), un système circulatoire, un cœur et des branchies : seul le groupe des myodocopes Cyndroleberididae possèdent cette particularité, ce sont les myodocopes avec branchies (Fig. 27C). Ils présentent un niveau d'organisation proches des décapodes.

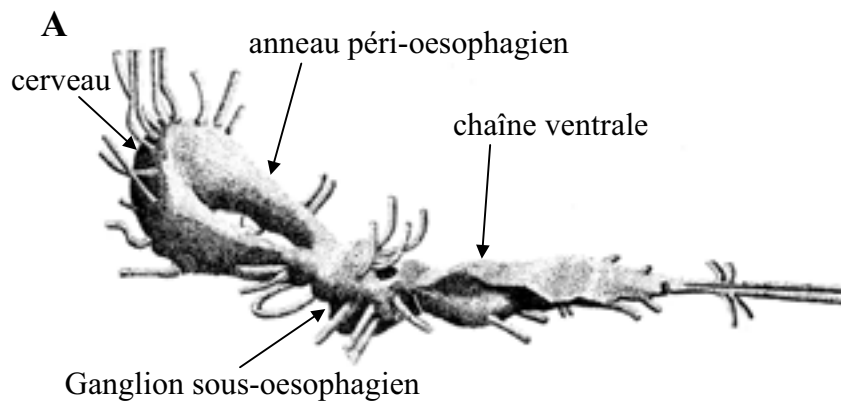
Il est important de noter que malgré les différences morphologiques résidant entre les différents groupes d'ostracodes, l'existence d'une convection ventilatoire est constante chez les ostracodes et apparaît primordiale pour l'acquisition de l'oxygène et l'élimination du dioxyde de carbone. C'est pour cela que le fondement de notre étude de la respiration chez les ostracodes est basé sur l'analyse de la ventilation. Nous allons maintenant récapituler les principaux acquis de la littérature sur l'ensemble des étapes de la respiration chez les ostracodes.

Les podocopes

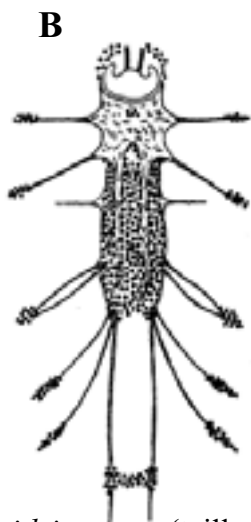
Ce sont les ostracodes les plus primitifs en terme d'évolution. Ils possèdent un appareil ventilatoire simple composé d'une paire de scaphognathites (Figs. 27A , 28), ils ne possèdent ni cœur, ni système circulatoire (ex : les espèces *Leptocythere castanea*, *Cyprideis torosa*, *Loxoconcha elliptica*, *Cytheropteron alatum*, *Argilloecia conoidea* et le genre *Krithe* étudiés dans ce travail). Aucune forme de système cardiaque ou de vaisseaux n'a été décrite sur l'ensemble des 8000 espèces de podocopes décrites (Vannier et Abe, 1992).

Seules deux étapes du transfert de l'oxygène vers les cellules sont présentes chez les podocopes : l'étape de ventilation et l'étape de diffusion de l'oxygène de l'eau ventilée présente dans le domicilium vers le milieu intérieur (les cellules).

La ventilation : Tous les ostracodes possèdent une paire d'appendices spécialisés permettant l'acquisition de l'oxygène. Ces appendices appelés palettes ventilatoires dans la littérature (Fig. 28) sont les équivalents des scaphognathites que l'on retrouve chez les



Herpetocypris reptans (taille : 3 mm)



Cyprideis torosa (taille : 1 mm)



Gigantocypris muelleri (taille : 3 cm)

Figure 29 : Système nerveux chez les ostracodes. **A-** Chaîne nerveuse chez le Podocope d'eau douce *Herpetocypris reptans* (Rome, 1947). **B-** Chaîne nerveuse chez le Podocope *Cyprideis torosa* (Hartman, 1967). **C-** Chaîne nerveuse chez le myodocope *Gigantocypris muelleri* (Hartman, 1967). La taille de l'espèce est indiquée entre parenthèse.

crustacés tels que crabes, crevettes, écrevisses (*nous utiliserons d'ailleurs tout au long de ce manuscrit le terme scaphognathite pour désigner ces appendices chez les ostracodes*). Les scaphognathites correspondent chez les podocopes, à la quatrième paire d'appendice c'est à dire les maxilles (plus précisément à l'épipodite du maxille développé en palette comme pour les décapodes). Les battements rythmiques des scaphognathites chez les ostracodes permettent la circulation et le renouvellement de l'eau entre les valves, le long du corps mou de l'animal. La circulation de l'eau s'effectue de l'avant de l'animal vers l'arrière (mode reversal ou backward, Fig. 22). Peu ou pas d'information sur la ventilation des podocopes et des ostracodes en général est rapportée dans la littérature. A notre connaissance, seuls Danielopol et al. (1993) ont décrit brièvement la ventilation de *Metacypris cordata* (podocope d'eau douce) comme étant irrégulière (fréquences ventilatoires, fR comprises entre 0-50 min⁻¹).

L'étape de ventilation doit être considérée comme un aspect fondamental de la description des échanges respiratoires chez les ostracodes podocopes comme décrit dans le paragraphe concernant les décapodes. Les capacités de prélèvement d'O₂ par ce mécanisme convectif peuvent être décrit par :

$$(équation 6) \quad \dot{M}O_2 = \dot{V}_w \cdot \alpha_{wO_2} (P_{IO_2} - P_{EO_2})$$

α_{wO_2} : solubilité de l'eau pour O₂

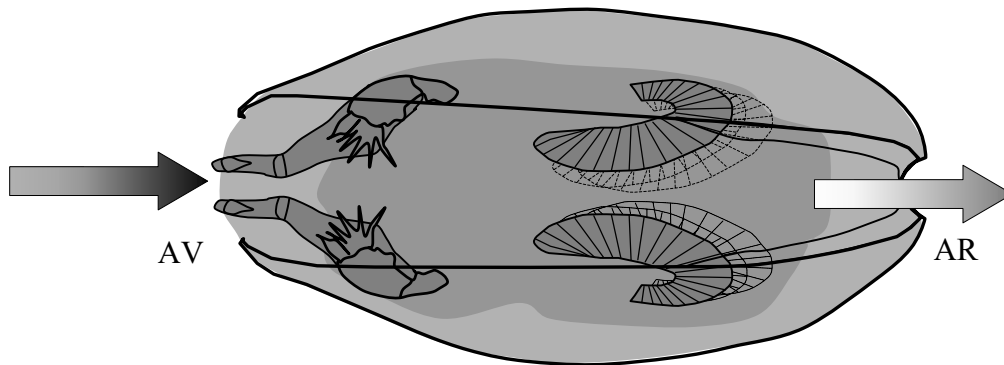
P_{IO₂}: pression partielle d'oxygène dans l'eau inspirée (kPa)

P_{EO₂}: pression partielle d'oxygène dans l'eau expirée (kPa)

Ces équations indiquent que la consommation d'oxygène ($\dot{M}O_2$) dépend de paramètres multiples tels que le débit ventilatoire \dot{V}_w , PO₂ dans l'eau inspirée (P_{IO₂}) et l'eau expirée (P_{EO₂}). Ceci met en évidence (i), le rôle actif du débit ventilatoire (\dot{V}_w) illustrant ainsi notre démarche basée sur l'analyse des mécanismes de régulation des scaphognathites chez les ostracodes podocopes et (ii), le rôle fondamental de PO₂ dans le domicile.

Genèse du rythme ventilatoire : Le système nerveux des ostracodes est composé de trois parties : un "cerveau", un anneau péri-œsophagien et une chaîne ventrale de ganglions dont un ganglion sous-œsophagien (Fig. 29). Ce système nerveux a été décrit et détaillé chez l'ostracode podocope d'eau douce *Herpetocypris reptans* par Rome (1947). Cette étude sert principalement de référence pour l'ensemble des ostracodes bien qu'il existe une grande diversité morphologique entre les groupes d'ostracodes. Néanmoins en comparant le système

A: Étape de ventilation



B : Étape de diffusion

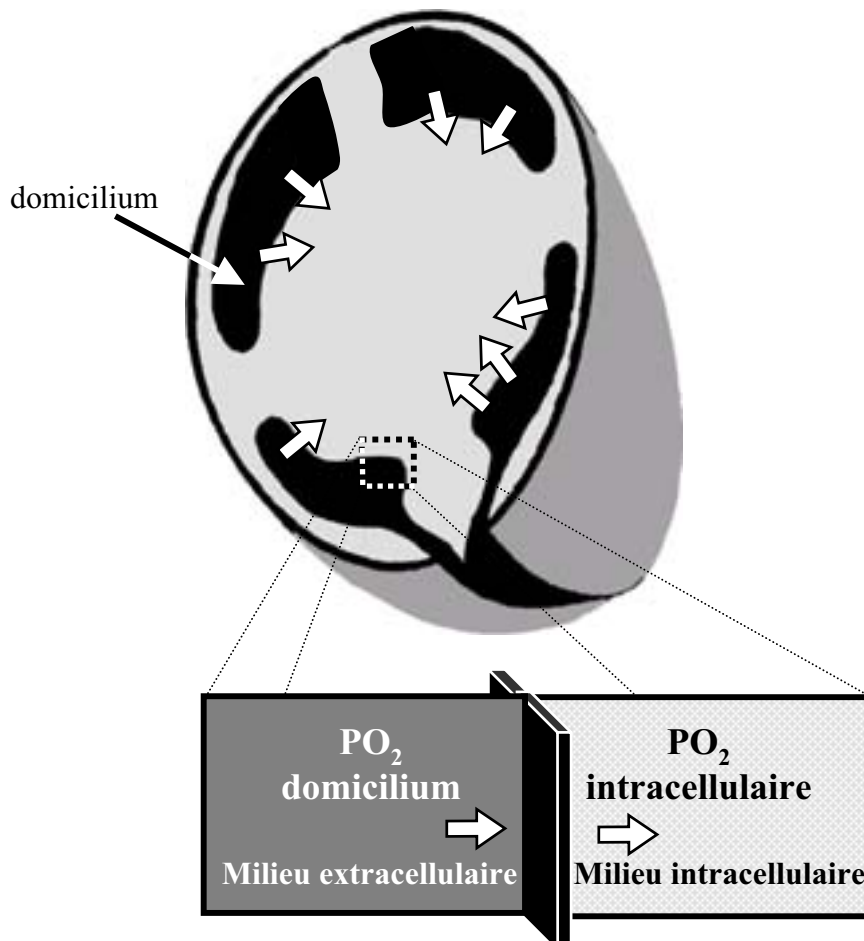


Figure 30 : Les deux étapes de la respiration chez les Podocopes. **A-** Étape de la ventilation, vue ventrale. Les flèches grises indiquent le sens de circulation de l'eau. **B-** Étape de diffusion. Les flèches blanches indiquent le sens de diffusion de l'oxygène du domicilium vers les tissus. Schéma inspiré de Vannier et Abe, 1995.

nerveux de différents ostracodes, de fortes similitudes d'organisation apparaissent de façon évidente avec la présence d'un anneau péri-œsophagien (Fig. 29).

L'activité ventilatoire chez les podocopes résulte de mécanismes mettant en jeu 4 muscles innervant chaque scaphognathite (Hartmann, 1967). L'activité de ces muscles est contrôlée par des nerfs provenant du ganglion sous-œsophagien au niveau du système nerveux central. Concernant les neurones générateurs du rythme ventilatoire (CPG), aucune information n'est disponible dans la littérature (*Dans le chapitre 3 sur les podocopes, nous discuterons de ce point chez les ostracodes en terme d'évolution*). Néanmoins, il est intéressant de rappeler à nouveau que la circulation de l'eau s'effectue d'avant en arrière et correspond à un mode de ventilation de type reversal décrit précédemment pour le crabe *Carcinus maenas*.

La diffusion cellulaire: Les gaz (O₂ et CO₂) sont échangés directement par diffusion entre l'eau contenue dans le domicile (PO₂ extracellulaire) et les tissus (PO₂ intracellulaire). Cette étape de diffusion peut être décrite par :

$$(équation 7) \quad \dot{M}O_2 = S \cdot 1/E \cdot KO_2 (PO_2 \text{ domicile} - PO_2 \text{ cellulaire})$$

S : la surface de l'échangeur

E : l'épaisseur de l'échangeur

KO₂ : la constante de diffusion de Krogh définie selon la nature du tissu de l'échangeur.

Vannier et Abe (1995) ont calculé que chez les ostracodes ce mécanisme de diffusion doit être effectif jusqu'à un rayon critique de 1mm (quand on considère le corps de l'ostracode analogue à une sphère). La majorité des podocopes étant de taille inférieure au mm, la diffusion de l'oxygène apparaît donc comme un mécanisme suffisant pour approvisionner les tissus en oxygène. La figure 30 résume les deux étapes essentielles de la respiration chez les podocopes.

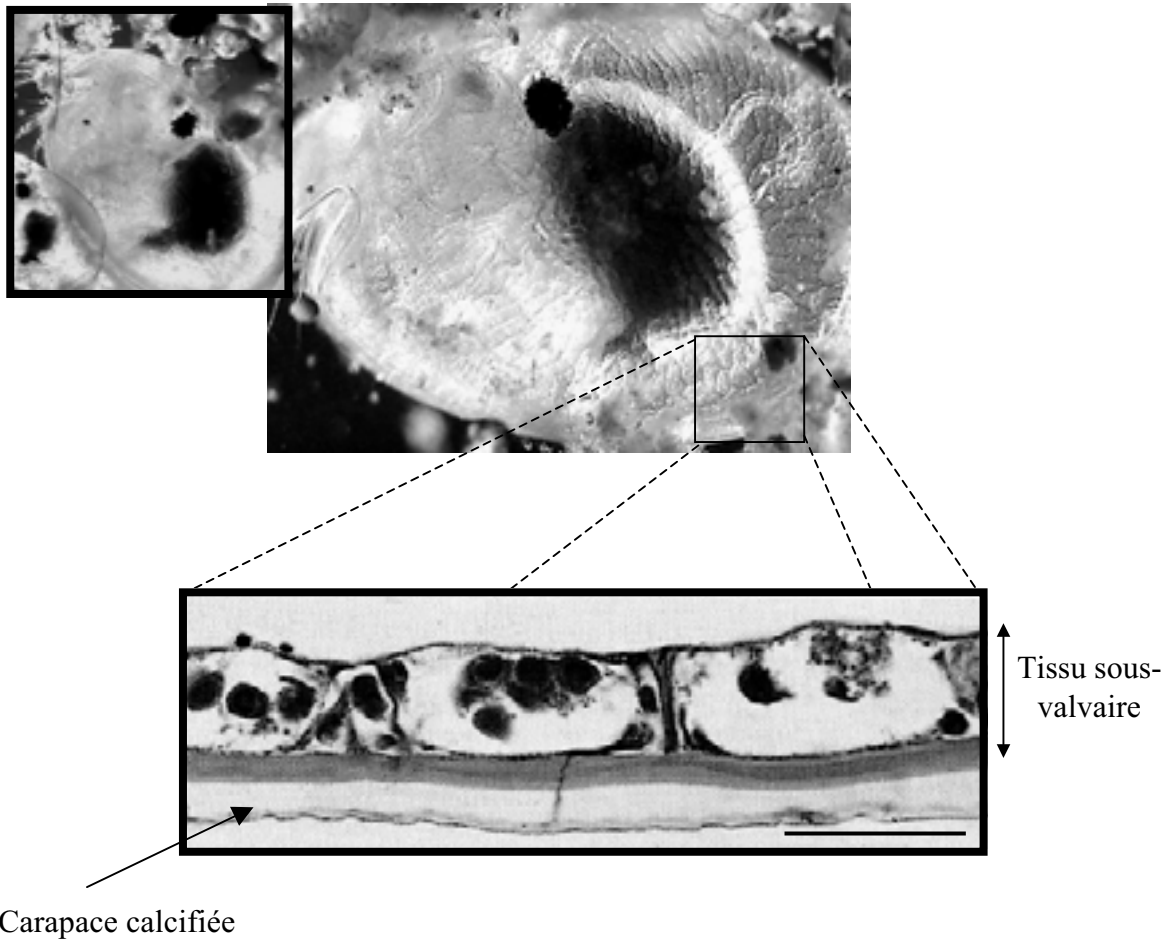


Figure 31 : *Vargula hilgendorffii*, vascularisation du tissu sous-valvaire. La transparence des valves permet de visualiser le réseaux de vaisseaux. Photo microscopie, échelle = 50 μm (Abe et Vannier, 1995).

Les myodocopes sans branchies

Les myodocopes sont les seuls ostracodes à posséder un cœur. Chez les myodocopes comme chez l'ensemble des ostracodes, il existe encore de nombreuses inconnues sur le mode de fonctionnement et les modalités de leurs échanges gazeux. Néanmoins à partir de l'anatomie de leur système respiratoire, il est possible d'extrapoler les mécanismes d'approvisionnement en oxygène vers les cellules.

Une grande partie des myodocopes possèdent un appareil ventilatoire (scaphognathites, Fig. 27 B) et un cœur bien développé (sauf certains groupes comme les Polycopes, Polycopidae ; Cohen, 1982 ; Tableau 1), un système circulatoire avec une vascularisation au niveau du tissu recouvrant l'intérieur des valves dénommée tissu sous-valvaire (Fig. 31). De récentes études (Abe et Vannier, 1995 ; Vannier et Abe, 1995 ; Vannier et al, 1997) ont décrit la présence de ce tissu sous-valvaire chez les ostracodes myodocopes et plus particulièrement chez l'espèce *Vargula hilgendorffii* (Cypridinidae). La même organisation du système circulatoire est décrite chez Halocypridinae, ostracodes planctoniques (Angel, 1970, 1993 ; Vannier et al., 1997 ; Vannier et Chen, 2000). Cependant leurs valves peu calcifiées possèdent de larges sinus délimités de manière moins définie que chez les Cypridinidae. La vascularisation du tissu sous-valvaire chez les *Cylindroleberididae* (myodocopes avec branchies ; section suivante) est présente mais de manière moins structurée et plus diffuse et semblerait moins fonctionnelle en comparaison avec les groupes précédents (Vannier et al., 1996).

Les myodocopes sans branchies présentent donc les quatre étapes de la respiration précédemment décrites pour les décapodes (Fig. 15).

La ventilation : L'étape de ventilation due aux mouvements rythmiques des scaphognathites demeure une étape essentielle (*voir description précédente*). Les scaphognathites correspondent comme pour les podocopes à la quatrième paire d'appendice (épipodite du maxille développé en palette). Néanmoins chez certains myodocopes (ex *Cylindroleberididae*), la cinquième paire d'appendice possède aussi une partie distale en forme de palette qui a été considérée comme pouvant jouer un rôle dans la circulation de l'eau entre les valves mais également dans la prise de nourriture (mode de nutrition par filtration ; Cannon, 1933). La circulation de l'eau comme pour les podocopes s'effectue de l'avant de l'animal vers l'arrière (Fig. 28). Les capacités de prélèvement d'O₂ par ce mécanisme convectif peuvent être décrites par la même équation décrite précédemment pour les podocopes.

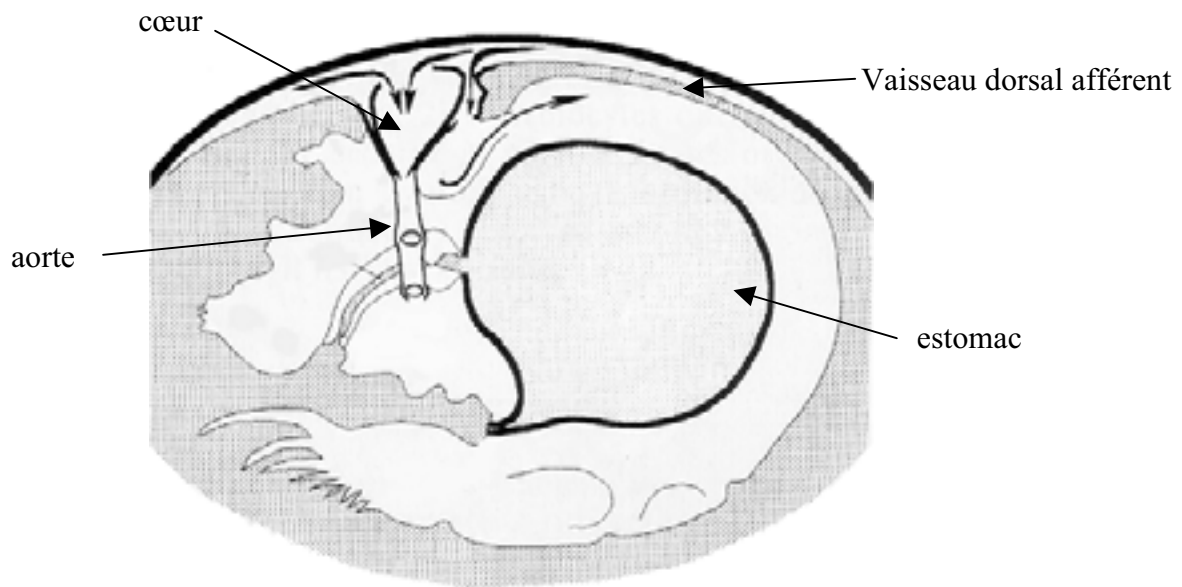


Figure 32: Système circulatoire chez *Vargula hilgendorfii* (Abe et Vannier, 1995)

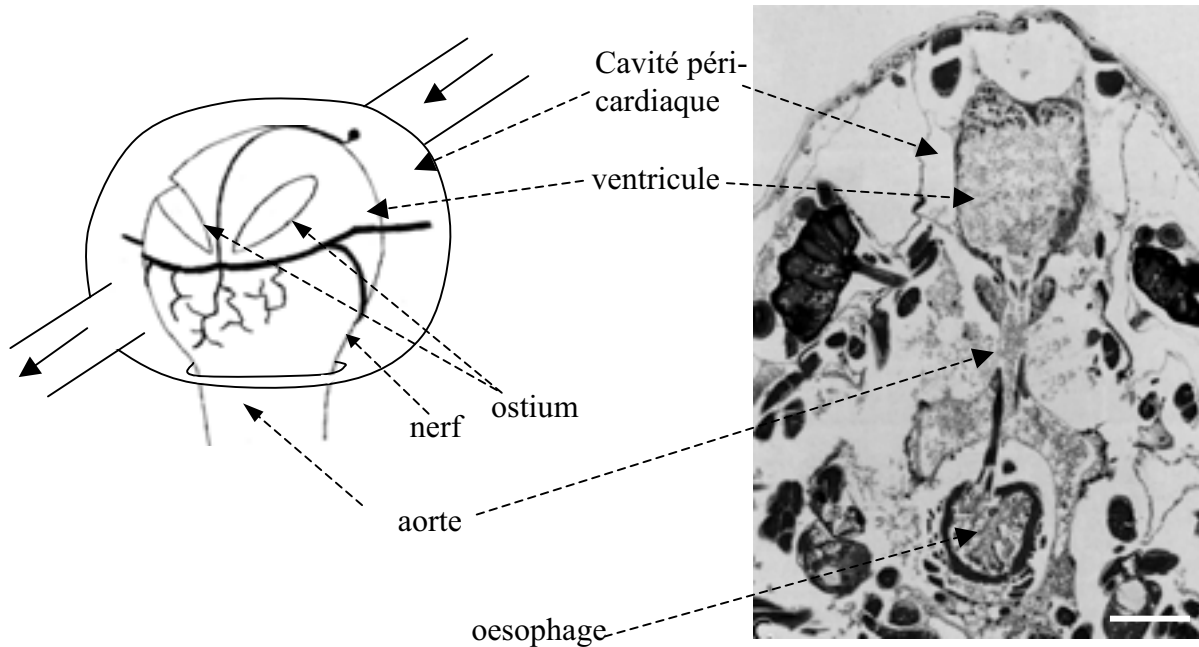


Figure 33 : Système cardiaque du Cypridinidae, *Vargula hilengdorfii* (inspiré de Ando, et al., 2001). Photo Abe et Vannier, 1995 ; Échelle = 100 μm .

Genèse du rythme ventilatoire : Dans la littérature, le système nerveux des myodocopes est décrit comme similaire à celui des podocopes (voir le paragraphe précédent). Angel (1993) rapporte que le système nerveux central serait composé d'une série de ganglions semi-fusionnés, entourant l'œsophage. La figure 29C permet la comparaison entre la structure du système nerveux des myodocopes avec celui des podocopes. Là encore, la description est uniquement anatomique et n'indique pas le rôle de neurones générateurs du rythme ventilatoire (CPG). Cependant il est intéressant de noter que leur mode de ventilation est également de type reversal ou backward. De plus, Cannon (1933) indique que les mouvements des scaphognathites sont indépendants l'un de l'autre. En effet, il a parfois observé les battements d'un des scaphognathites alors que l'autre ne battait pas, laissant supposer une indépendance des centres moteurs. Nous discuterons de cet aspect en terme d'évolution dans le chapitre 4 concernant les myodocopes.

La diffusion : L'étape de diffusion branchiale *sensus stricto* n'est pas ici effective car ces myodocopes n'ont pas de branchies. Cependant, la présence du tissu sous-valvaire peut être considérée comme ayant une fonction branchiale, à savoir une augmentation de surface d'échange facilitant l'approvisionnement en oxygène vers le milieu intérieur.

La vascularisation du tissu sous-valvaire a été principalement décrite chez *Vargula hilgendorffii* (Abe et Vannier, 1995). On remarque dans ce tissu, un réseau de sinus anastomosés visible à travers la carapace peu calcifiée (Fig. 31). La présence d'hémocytes est visible également par transparence et leur vitesse de déplacement a été reportée entre 200-300 $\mu\text{m}\cdot\text{sec}^{-1}$ (Abe et Vannier, 1995). L'ensemble des vaisseaux se rejoint au niveau d'un vaisseau dorsal afférent conduisant directement au cœur. L'organisation du système circulatoire n'a pas été décrit dans sa totalité, cependant la vascularisation des tissus sous-valvaires, présente surtout dans le groupe des Cypridinidae, devrait avoir de toute évidence une fonction importante dans le transport de l'oxygène (Vannier et Abe, 1995).

La circulation sanguine : Le cœur des myodocopes, principalement décrit pour l'espèce *Vargula hilgendorffii* (Cypridinidae) est composé d'une seule chambre avec deux ostioles (assimilable à un ventricule) suspendue dans la cavité péricardique (Figs. 32,33). La structure du ventricule du cœur consiste en une seule couche de cellules myocardiques d'épaisseur 5-10 μm (Ando et al., 2001 ; Abe et Vannier, 1995). La cavité péricardique est reliée à l'ensemble du système circulatoire par deux canaux afférents (antérieur et postérieur) et un tronc aortique efférent en position ventrale (Abe et Vannier, 1995). L'aorte efférente se

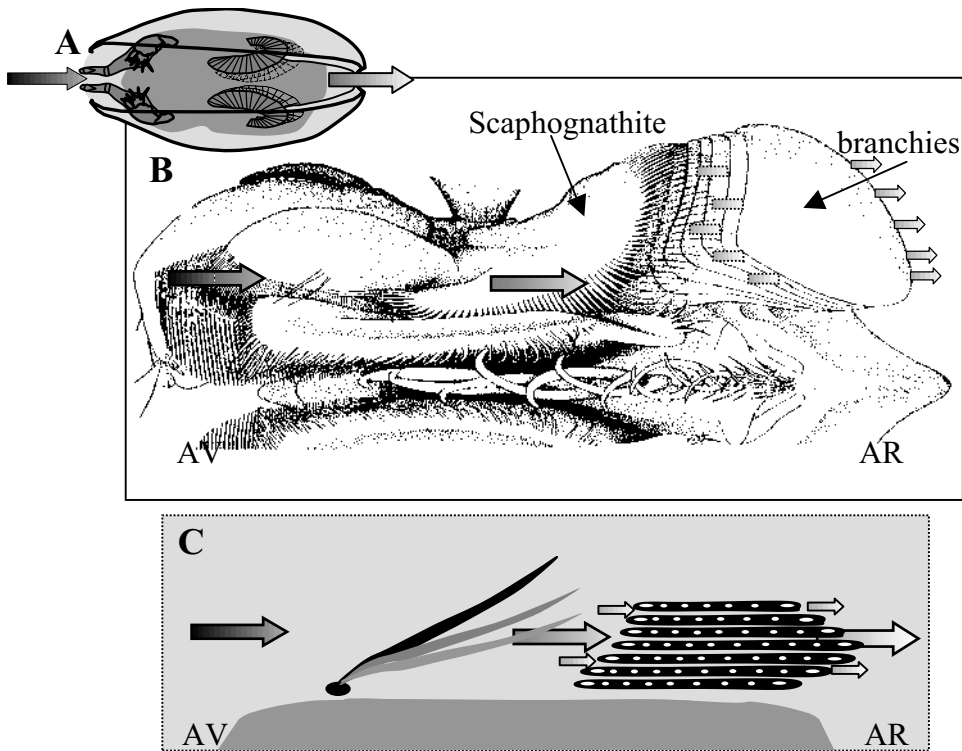


Figure 34: A- Organisation générale. B- Étape de ventilation chez le *Cylindroleberididae* *Cylindroleberis mariae* (vue ventrale). Dessin Cannon, 1933. C- Fonctionnement du couplage branchies-scaphognathites, les flèches blanches symbolisent le sens du courant d'eau généré par les mouvements rythmiques des scaphognathites.

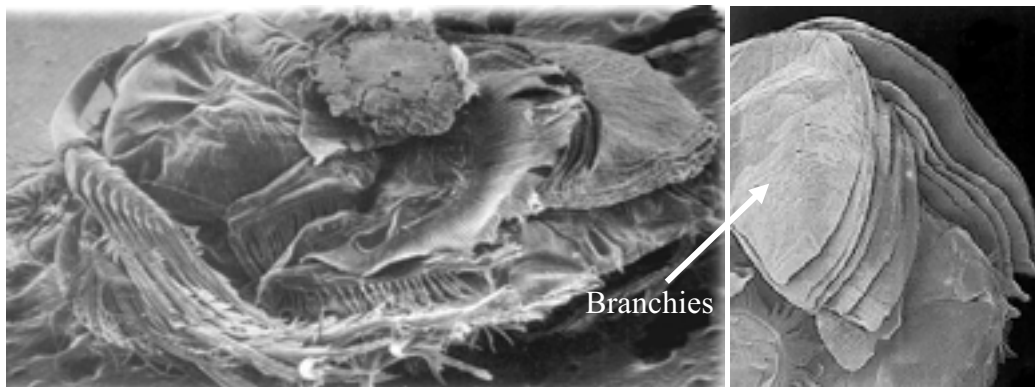


Figure 35: Les branchies lamellaires du myodocope *Cylindroleberididae* *Leuroleberis surugaensis* (Vannier et al., 1996).

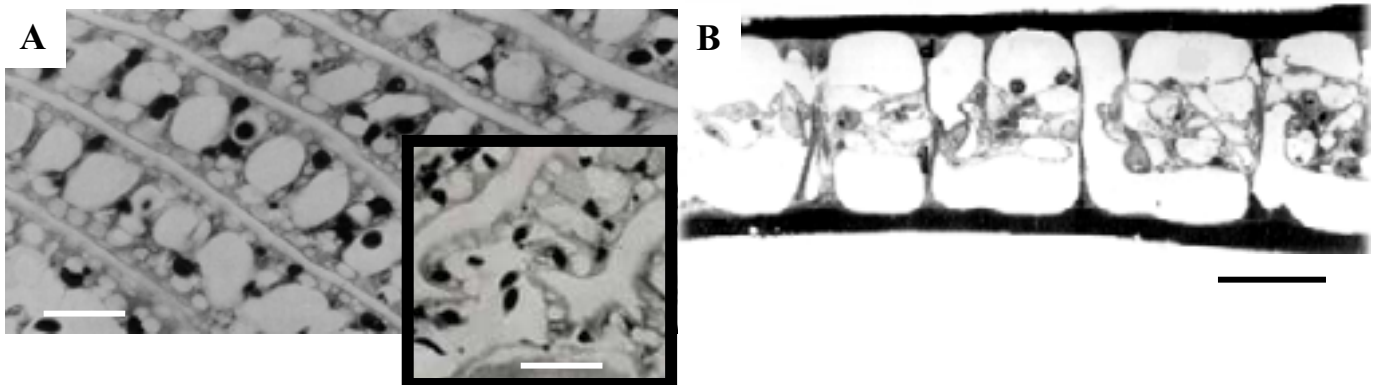


Figure 36: Structure du tissu branchial. A- *Leuroleberis surugaensis* (Vannier et al., 1996). B - Crabe *Carcinus maenas*. A noter l'homologie des structures branchiales de myodocope et de crabe. Échelle = 50 μ m.

divise en deux pour former un anneau autour de l'œsophage. La présence et le transport des hémocytes, pompés par le cœur ont été observés chez *Vargula hilgendorffii* indiquant ainsi le sens de la circulation (Abe et Vannier, 1995). La taille du ventricule cardiaque est d'environ 250 μm pour des myodocopes de taille entre 2-3 mm. Le système nerveux cardiaque comporte trois principaux nerfs (dorsal, latéral et ventral). Le cœur des myodocopes est de type neurogénique (comme l'ensemble des crustacés adultes) avec un ganglion cardiaque agissant comme un pacemaker mais ayant également des fonctions motrices (Ishii et Yamagishi, 2002).

La diffusion cellulaire : cette dernière étape, n'est pas décrite chez les myodocopes mais on peut penser que comme pour les décapodes, elle est la résultante de la cascade de pressions partielles en oxygène jusqu'au cellules. *Nous discuterons de cette étape dans le chapitre 3 sur les podocopes ainsi que dans le chapitre 4 sur les myodocopes.*

Les myodocopes avec branchies

Les Cyndroleberididae (Fig. 27C) possèdent en plus d'un appareil ventilatoire (scaphognathites) et d'un système circulatoire (cœur), une série de branchies lamellaires situées dans la partie postérieure de l'animal (Vannier et al., 1996). *L'espèce Cyndroleberis mariae présentant ce cas de figure sera étudiée dans le chapitre 4 concernant les myodocopes.*

La ventilation : L'étape de ventilation est identique à celle précédemment décrite pour les myodocopes sans branchies. La figure 34 résume cette étape en mettant en avant le couplage scaphognathites / branchies.

La diffusion branchiale : la famille des Cyndroleberididae est la seule famille d'ostracodes à posséder des branchies. Elles se composent de 7 à 8 paires de lamelles branchiales. Attachées dorsalement, elles se superposent les unes aux autres telles les pages d'un livre et recouvrent la partie postérieure du corps de l'animal (Fig. 35). La seule description connue récente chez le Cyndroleberididae *Leuroleberis suruganensis* (Vannier et al., 1996) montre que chaque lamelle est composée de nombreuses lacunes de tailles et formes variables. De nombreuses cellules piliers, typiques des tissus branchiaux composent également les tissus épidermiques des branchies de myodocope (Fig. 36). Au niveau du fonctionnement des branchies, leur jonction avec le système circulatoire demeure imprécise et

Appareils respiratoires				
	Scaphognathites	Cœur	Tissu sous-valvaire	Branchies
PODOCOPA				
Podocope	+	-	-	-
Platycope	+	-	-	-
MYODOCOPA				
Halocyprididae	+	+	+/-	-
Cypridinidae	+	+	+	-
Cylindroleberididae	+	+	+/-	+

Tableau 2: Synthèse des appareils respiratoires chez les principaux groupes d'ostracodes

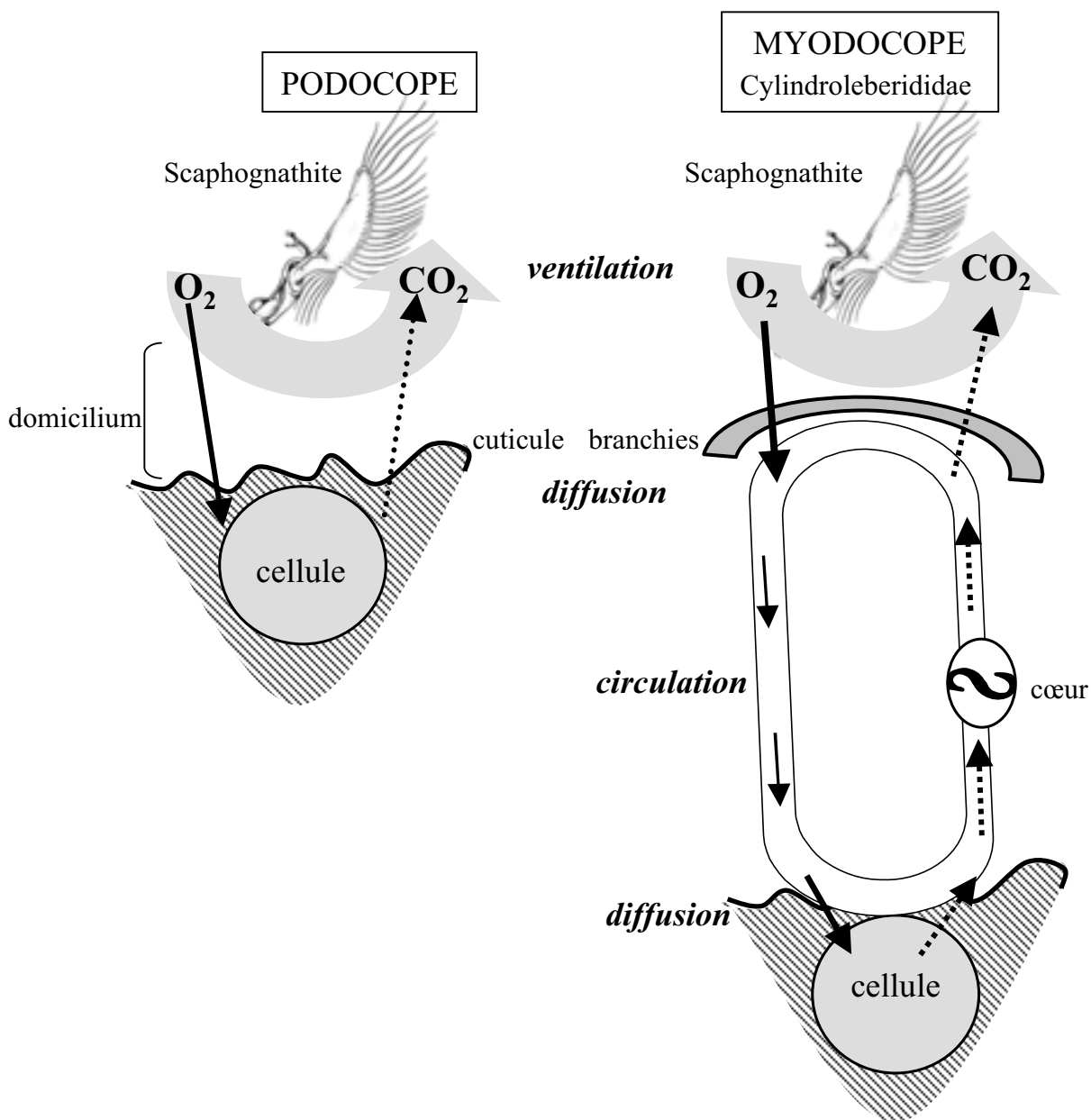


Figure 37: Schéma de synthèse des grandes étapes de la respiration chez les Podocopes et les Myodocopes.

mal décrite par rapport à ce que l'on peut trouver chez les décapodes. La fonctionnalité et l'efficacité de ces branchies peuvent être difficilement estimées mais il faut noter que le couplage scaphognathites-branchies se rapproche de la structure de la cavité branchiale chez les décapodes par exemple.

La circulation sanguine : La structure du cœur et les principales voies circulatoires ont été décrites précédemment pour les myodocopes sans branchies et sont identiques pour les myodocopes avec branchies. Pour rappel, les figures 32-33 présentent l'organisation du système circulatoire chez *Vargula hilgendorfi*.

La diffusion cellulaire : cette dernière étape, n'est pas décrite chez les ostracodes mais on peut penser que comme pour les décapodes, elle est la résultante de la cascade de pressions partielles en oxygène jusqu'au cellules.

En résumé, chez les myodocopes, il existe les quatre étapes de la fonction respiratoire alors qu'il n'en existe que deux pour les podocopes :

- 1- L'étape de convection ventilatoire (podocopes + myodocopes)
- 2- L'étape de diffusion des gaz à travers l'épithélium respiratoire vers le sang (O₂)
(l'épithélium branchiale chez les myodocopes avec branchies (Cylindroleberididae) ou tissu sous-valvaire chez les myodocopes sans branchies (Cypridinidae)
- 3- L'étape de convection circulatoire (fonction cardiaque chez les myodocopes)
- 4- La dernière étape de diffusion (approvisionnement en oxygène vers la cellule chez les podocopes et myodocopes)

Le tableau 2, ainsi que la figure 37, résumant la complexification de l'ensemble des appareils respiratoires et leur fonctionnement chez les principaux groupes d'ostracodes.

Présence d'hémoglobine chez les ostracodes

La présence d'un pigment respiratoire est une caractéristique importante dans le transport de l'oxygène vers la cellule. Dans la littérature il est rapporté la présence d'hémoglobine chez les ostracodes mais, à notre avis et d'après les articles originaux, sans réelle démonstration expérimentale publiée (Fox, 1948, 1949, 1957). Néanmoins les récentes études (Abe et Vannier, 1995 ; Ando et al., 2001 ; Ishii et Yamagishi, 2002) sur le système

cardiaque du myodocope Cypridinidae *Vargula hilgendorffii*, parlent de la présence d'hémocytes (assimilables à des globules blancs) mais pas de pigments respiratoires que ce soit hémoglobine ou encore hémocyanine. Il n'a jamais été reporté la présence d'un pigment respiratoire chez les podocopes. Enfin d'autres travaux plus généraux (Hourdez et al, 2000 ; Weber et Vinogradov, 2001, Terwilliger et Ryan, 2001) traitant de la présence d'hémoglobine chez les invertébrés laisse en suspens la question des caractéristiques éventuelles de ce pigment chez les ostracodes. Aucune analyse ou étude récente ne rapporte la présence d'hémoglobine : la question reste donc ouverte.

Paléo-océanographie, ostracodes et oxygène

Les ostracodes sont couramment utilisés en paléo-océanographie, aussi bien qu'en paléolimnologie comme traceurs de paramètres des paléo-environnements, traceurs chronologiques et climatiques. Il existe dans la littérature deux hypothèses liant les ostracodes et l'oxygène dans un contexte paléoclimatique :

- relation entre la taille du vestibule (*voir section anatomie des ostracodes*) des *Krithe* et oxygène
- relation entre l'abondance du groupe des Cytherellidae (Platycope, Tableau 1) et oxygène

Dans le chapitre 6, nous discuterons de ces deux hypothèses dans le cadre d'une étude de ces deux groupes d'ostracodes, apportant ainsi quelques réponses abordées sous l'angle de la physiologie respiratoire. Dans le cadre de cette section sur la physiologie respiratoire, il nous a semblé intéressant d'énoncer les bases de ces deux hypothèses liant les animaux à l'oxygène.

Le vestibule des Krithe et l'oxygène

Le genre *Krithe* est utilisé pour estimer la valeur de l'oxygène dans les paléoenvironnements marins profonds. L'hypothèse originelle concernant la relation entre la taille du vestibule et la valeur de l'oxygène a été proposée par Peypouquet (1975, 1977, 1979). Cet auteur a reporté qu'il existait "une relation entre les variations morphologiques du vestibule des *Krithe* et les teneurs en oxygène dissous dans l'eau de mer" (Peypouquet, 1979). Selon l'auteur, il existerait une relation directe entre taille du vestibule antérieur et valeur de l'oxygène dissous à l'interface eau-sédiment basée sur une corrélation empirique entre le vestibule des *Krithe* et les données de oxygénation des fonds océaniques. Plus la quantité d'oxygène serait faible et plus grande serait la taille du vestibule. Il serait donc possible à

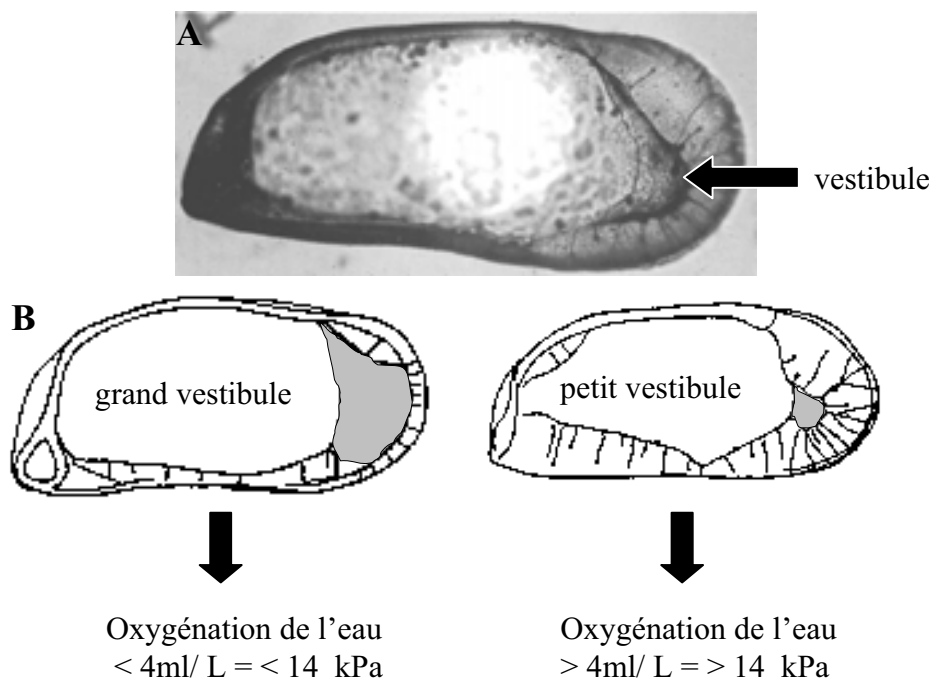


Figure 38: Relation vestibule des *Krithe* – oxygène. **A-** Photo de valve fossile de *Krithe* où le vestibule est visible en transparence. **B-** Hypothèse de Peypouquet (1979) et relation entre la concentration en oxygène dans l'eau ($T^{\circ}\text{C} = 10^{\circ}\text{C}$) et la taille du vestibule (symbolisé en grisé).

partir de cette relation d'avoir des informations sur la ventilation présente ou passée des fonds océaniques (Fig. 38).

Le vestibule correspond à la calcification de la lamelle interne (voir Fig. 8) formant ainsi lors de la fossilisation une structure creuse. Le vestibule n'est pas exclusivement présent chez les *Krithe* mais aussi chez un grand nombre d'ostracodes podocopes (Cohen, 1982) mais il semblerait que sa taille soit beaucoup plus accentuée et variable chez le genre *Krithe*. Au niveau des explications physiologiques, le vestibule des *Krithe* a été interprété comme une sorte de réservoir pour l'oxygène où il y aurait une accumulation dans cette zone de cellules sub-dermales de type cellules sanguines pouvant synthétiser de l'hémoglobine (Peypouquet, 1977). Les arguments de Peypouquet (1979) sont que dans des environnements déficitaires en oxygène, les *Krithe* ont besoin de nombreuses cellules de types sanguines pour synthétiser les pigments respiratoires (hémoglobine). Dans ce cas, il serait logique que la place occupée par le vestibule soit maximale. Au contraire, les *Krithe* vivant dans des environnements riches en oxygène n'ont besoin que de peu de cellules sanguines pour synthétiser les pigments respiratoires donc le vestibule sera de taille de moindre. Néanmoins, il est important de souligner, comme nous l'avons vu plus haut, qu'à ce jour il n'existe aucune démonstration publiée de la présence d'hémoglobine ou autre pigment respiratoire chez les *Krithe* et les ostracodes en général. De plus, aucune étude physiologique ou encore anatomique n'a encore été réalisée sur les liens directs pouvant exister entre le vestibule des *Krithe* et l'oxygène.

Dans le chapitre 6, nous avons étudié l'anatomie de la zone du vestibule chez les Krithe vivantes afin de rechercher sa signification biologique en relation avec des problèmes respiratoires .

Cytherellidae (Platycope) et oxygène

C'est en 1990 que R. Whatley a proposé pour la première fois, dans le chapitre introductif d'un mémoire de congrès, une explication pour rendre compte de la survie des platycopes dans des environnements peu oxygénés. Il considère tout d'abord que ce sont des animaux filtreurs (comme le sont les mollusques qui ventilent leurs branchies à la fois pour assurer leurs échanges gazeux et se nourrir), au vu d'un nombre plus important de palettes ventilatoires que chez les autres podocopes. Puis, partant de ce postulat il écrit que les Platycopes, "peuvent donc faire face à des niveaux d'oxygénation réduits car ils sont davantage capables d'extraire l'oxygène de l'eau grâce à une ventilation plus importante" ¹.

¹ "there is a simple biological explanation for the survival of filter-feeding platycopids in reduced oxygen. The Platycopida, in order to facilitate the circulation of water over the ventral surface of the body and from which

En 1991, Whatley reprend cet argumentaire en re-proposant la thèse suivant laquelle les Platycopina sont des filtreurs². Cette thèse l'amène à proposer à nouveau qu'un avantage secondaire lié à une ventilation fortement stimulée (" enhanced circulation ") est une augmentation des capacités respiratoires pour survivre dans des environnements peu oxygénés. Lors d'évènements kénoxiques (concentration en O₂ < 3 ml/l, i.e. PO₂ < 10 kPa à 10 °C), le phénomène leur donnerait donc un avantage écologique par comparaison aux ostracodes qui ne seraient pas des filtreurs. Actuellement ce sont ces deux articles qui sont essentiellement repris et cités dans la littérature dédiée à l'utilisation des platycopes comme paléo-marqueurs de l'oxygénation des fonds marins.

Par opposition avec l'ensemble des autres podocopes qui sont des détritivores, le mode de nutrition par filtration confèrerait donc aux Platycopes trois avantages lorsque le taux d'oxygène dissous dans l'eau diminue (Lethiers et Whatley, 1995) :

- 1- la respiration s'effectuant principalement à travers la cuticule de la cavité ventrale, la circulation continue de l'eau augmente la possibilité de prise de l'oxygène et d'échange des gaz.
- 2- souvent les ostracodes filtreurs couvent leurs œufs ainsi que les premiers stades larvaires dans la cavité ventrale. Ces premiers stades ontogéniques obtiennent donc le même bénéfice
- 3- dans les moments de diminution de l'oxygénation de l'eau, les filtreurs disposent de particules organiques plus abondantes pour leur nutrition.

A partir de ces affirmations, la proportion relative des Platycopes (%) au sein d'une population d'ostracodes pourrait donc être utilisée pour déterminer les valeurs de paléo-oxygénation des eaux développées à partir de l'aire secondaire (225 Millions d'années). De plus, certains groupes d'ostracodes éteints (Palaeocopa, Tableau 1) tels que les Métacopina et Kloedenellidae (Adamczak, 1966, Lethiers et Whatley, 1994) vivant uniquement au Paléozoïque, présentent la même anatomie que les Platycopes. L'hypothèse de Whatley pourrait donc être appliquée depuis le Paléozoïque (Whatley, 1991, 1995). A partir de reconstitution et de l'analyse des assemblages de Cytherellidae, une calibration a été établie (Whatley et al., 2003) reliant les valeurs d'oxygénation des eaux avec le pourcentage d'espèces appartenant aux Platycopes (tableau 3).

they extract the particulate matter which constitutes their food, have more branchial plates on their appendages than do the podocopids. The Platycopids can, therefore, cope with reduced oxygen levels by virtue of the fact that they are able to extract a sufficiency from the larger volumes of water which they circulate.

² *"The essentially marine...and benthonic Platycopina...are filter feeders. In order to perform the functions of alimentation, a large number of branchial plates circulate water over the ventral surface. Whatley, 1991.*

Platycopid	Oxygenation Levels	
	%	mL.L ⁻¹
>90 - 80	<1 - 2	< 3.3 - 6.6
80 - 60	2 - 3	6.6 - 10.0
60 - 40	3 - 4	10.0 - 13.3
30 - 20	4 - 5	13.3 - 16.6
< 20	> 5	> 16.6

Tableau 3: Calibration du paléomarqueur Platycopie, Cytherellidae. Le pourcentage correspond à l'abondance relative de Cytherellidae au sein d'une population d'ostracodes (Whatley et al., 2003). Nous avons calculé les équivalences en kPa pour une température de 10°C.

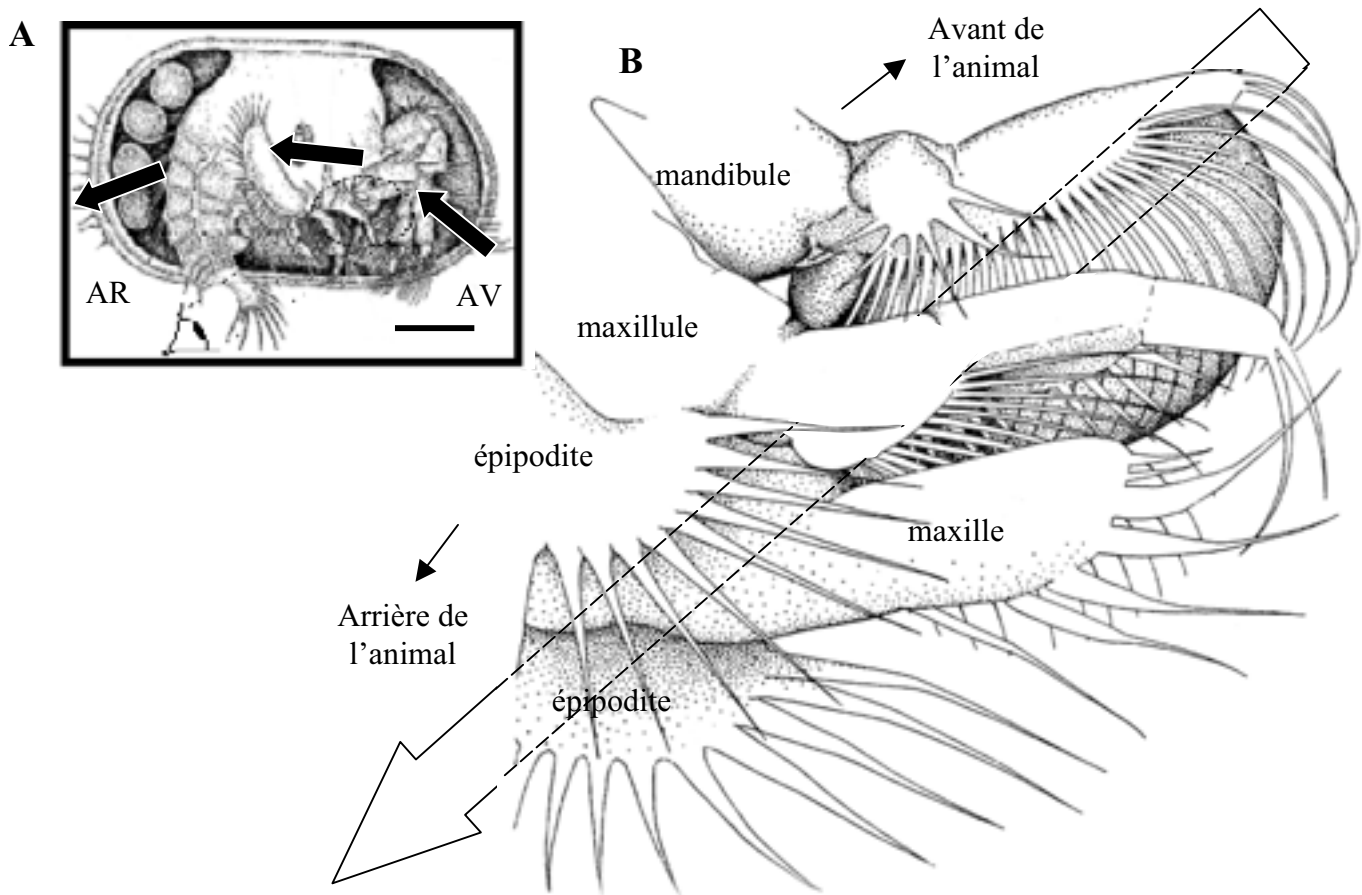


Figure 39: Platycopie, Cytherellidae. **A-** Organisation générale de Cytherellidae, valve droite enlevée. A noter l'angle de vue de la figure B. Échelle = 200 µm. **B-** Organisation de la série de palettes ventilatoires chez les Cytherellidae, Dessins Cannon, 1933.

Sans remettre en cause le fait que les platycopes puissent être des biomarqueurs d'environnement peu oxygénés, trois critiques doivent être faites sur les fondements de l'hypothèse de Whatley.

En fait, l'hypothèse que les platycopes seraient des filtres repose uniquement sur une description anatomique de Cannon (1933) cité par Lethiers et Whatley (1994). Les platycopes Cytherellidae possèdent 6 palettes ventilatoires (au lieu de 2 chez les autres ostracodes, comparer Fig. 28 et 39). L'analyse se fonde sur la description de l'anatomie des appendices, leur nombre et le nombre de soies. Les maxillules, maxilles et la première paire d'appendices thoraciques portent un épipodite en forme de palette bordé de soies ; ce sont les maxilles qui possèdent tout de même la palette ventilatoire la plus importante. Cannon (1933) considère donc que les Cytherellidae possèdent trois paires de palettes ventilatoires assimilées à des scaphognathites. Face à ces observations anatomiques, la première critique est qu'à notre connaissance, aucune donnée expérimentale ne démontre la réalité de ce mode de nutrition dans les eaux interstitielles du sédiment. La seconde est que rien ne démontre que le débit ventilatoire chez les platycopes soit supérieur à celui des autres ostracodes. Enfin, aucune étude expérimentale et/ou physiologique n'a démontré à ce jour que les platycopes résisteraient mieux à l'hypoxie que leurs congénères.

Dans le chapitre 6, nous avons étudié en terme de physiologie respiratoire, l'activité ventilatoire et également effectué une analyse morpho-fonctionnelle de l'espèce de Cytherellidae, Cytherella lata. Nous discuterons donc de l'hypothèse de Whatley sous un aspect biologique, en nous basant sur les capacités d'adaptation des Platycopes face aux changements d'oxygénation de l'eau.

4 – Eléments de physiologie respiratoire chez les caprellidés

Nous n'avons pu trouver dans la littérature d'information sur la physiologie respiratoire des Caprellidés en général et plus particulièrement de l'espèce profonde *Parvipalpus major*. Il existe cependant une étude sur les problèmes de tolérance des caprellidés littoraux à différentes salinités qui décrit la structure des branchies. La fonction des branchies est seulement discutée en terme d'iono-régulation et non pas en terme respiratoire. *Dans la seconde partie du chapitre 5, l'étude de la physiologie respiratoire chez le caprellidé profond Parvipalpus major se base exclusivement sur les informations obtenues à partir de l'observation des animaux vivants (étude comportementale) et de l'analyse morpho-fonctionnelle effectuée.*

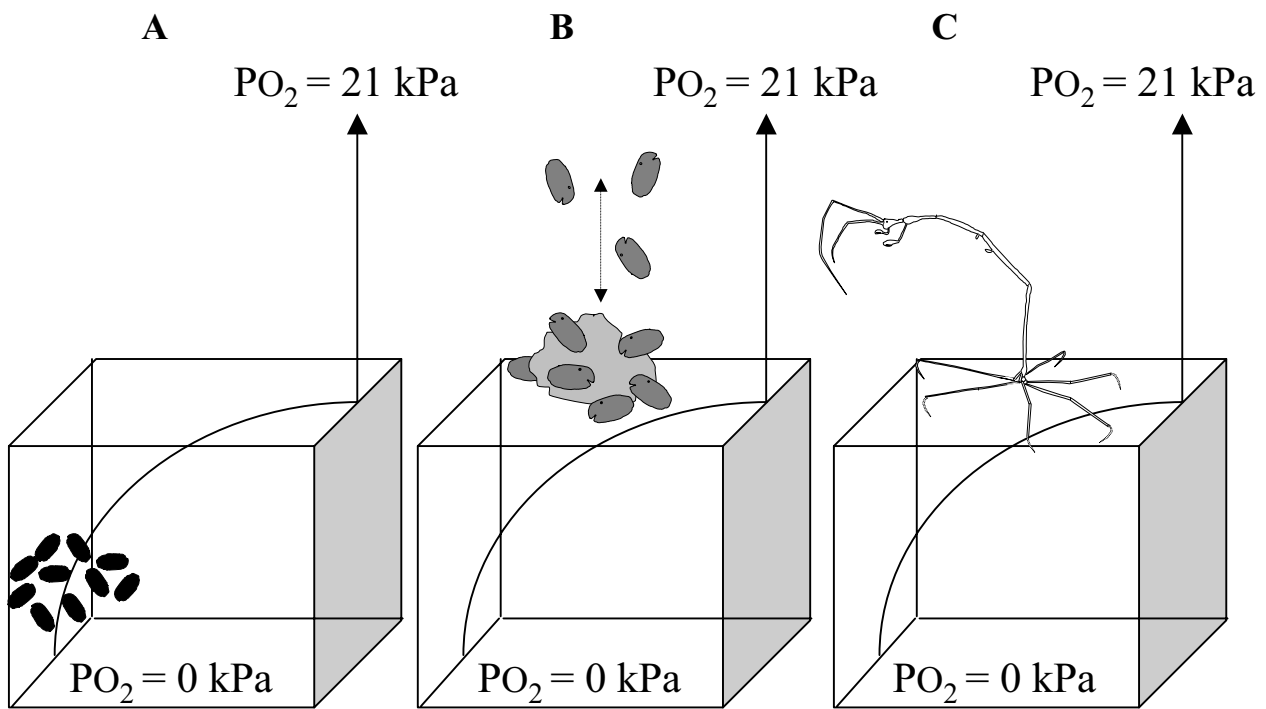


Figure 40: Schéma de principe du positionnement des animaux en fonction de leur mode de vie et du gradient d'oxygénation du sédiment. **A-** Les podocopes endobenthiques. **B-** Les myodocopes nectobenthiques. **C-** *Parvivalpus major* épibenthique.

IV- PLAN DU TRAVAIL PROPOSE

Le plan proposé pour la suite de ce travail est essentiellement basé sur l'analyse des capacités d'adaptation respiratoire (que ce soit par une régulation ventilatoire, circulatoire et morpho-fonctionnelle ou comportementale) chez les ostracodes et l'amphipode caprellidé *Parvipalpus major* (chapitre 5). Dans un premier temps (Fig. 40A, chapitre 3), nous nous sommes intéressés au maintien et à la régulation de l'oxygénation du milieu intérieur chez les groupes d'ostracodes présentant une organisation simple des appareils respiratoires, les Podocopes endobenthiques (sans cœur, ni système circulatoire). Puis nous avons appliqué le même type d'analyse (Fig. 40B, chapitre 4) sur les ostracodes Myodocopes, possédant un équipement complet en terme de transfert des gaz respiratoires (cœur, système circulatoire et branchies). Dans le chapitre 5, l'étude du caprellidé profond *Parvipalpus major* (Fig. 40C), qui colonise à quelques centimètres près le même biotope que les podocopes endobenthiques profonds, a été tout d'abord appréhendée sous un aspect comportemental. L'analyse de ce comportement nous a permis d'appliquer les principes fondamentaux de la physiologie respiratoire dans le but d'aborder les stratégies adaptatives d'un crustacé benthique plus récent, possédant des branchies dites vestigiales, et vivant dans un milieu relativement bien oxygéné. Pour terminer, dans le cadre du chapitre 6, nous avons appliqué nos analyses et principales conclusions sur la respiration des ostracodes à deux exemples d'ostracodes, utilisés en tant que paléo-marqueurs d'oxygénation.

Chapitre 2

MATERIELS ET METHODES

Chapitre 2
MATERIELS ET METHODES

I - LES ANIMAUX

- 1 - Ostracodes
- 2 - Caprellidés
- 3 - Modes de prélèvement
Bassin d’Arcachon
Golfe de Gascogne
- 4 - Stabulation
- 5 - Tri des animaux

II - METHODES D’ANALYSES - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX

- 1 - Adaptation ventilatoire et cardiaque
Dispositif d’analyse vidéo
Méthode d’analyse
- 2 - Etude comportementale
Podocopes et gradient d’oxygénation du sédiment
Myodocopes et rythmes circadiens
Comportement du caprellidé profond, Parvipalpus major

III - ANALYSE MORPHO-FONCTIONNELLE

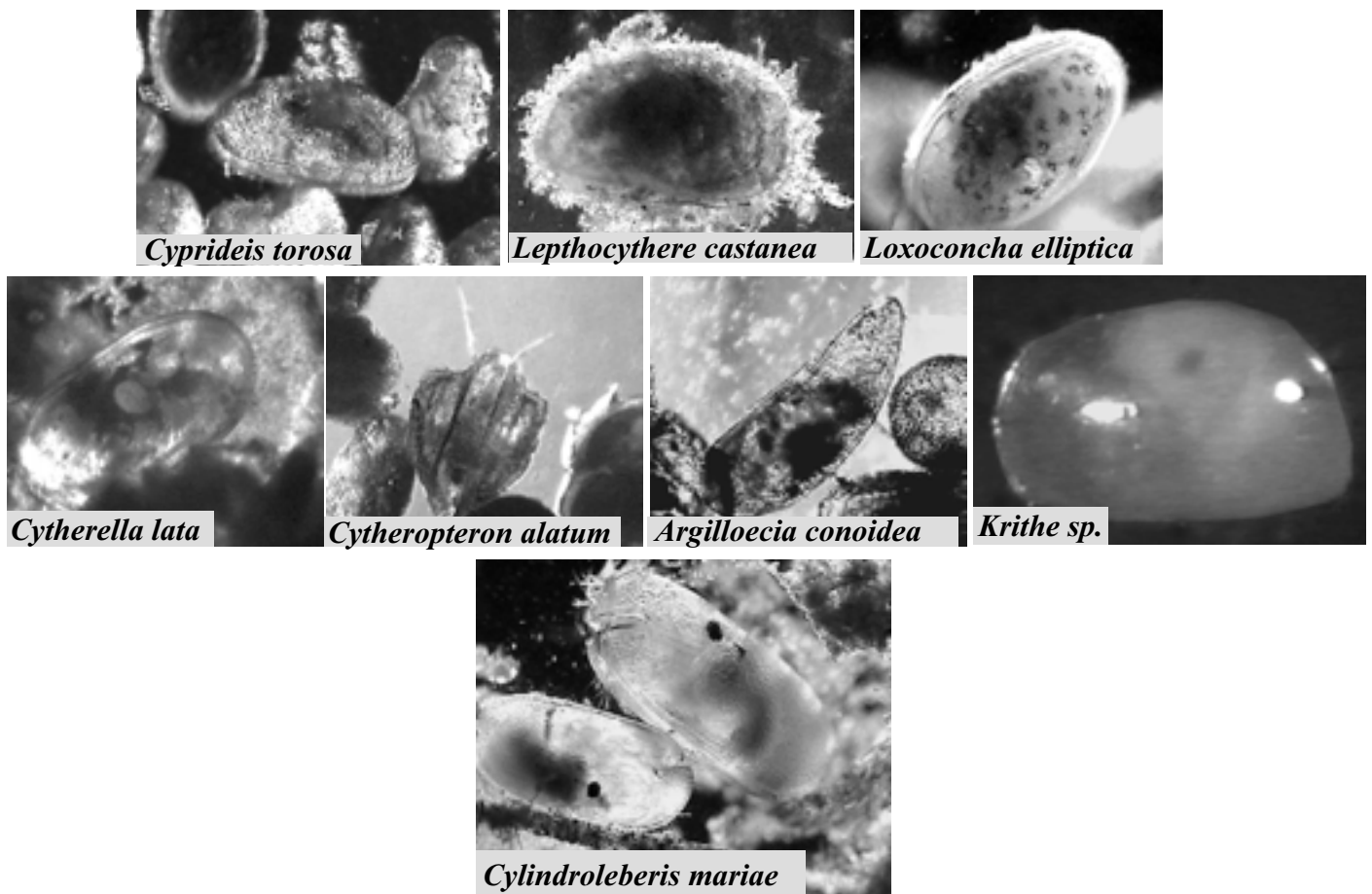


Figure 41: Les espèces étudiées (images d'ostracodes obtenues à partir du dispositif expérimental d'analyse vidéo, voir paragraphe méthodes d'analyse).

espèces	origine	position systématique	mode de vie	rang évolutif
<i>Leptocythere castanea</i>	Arcachon	Podocope - Cytheroidea	endobenthique	Tertiaire - Actuel
<i>Cyprideis torosa</i>	Arcachon	Podocope - Cytheroidea	endobenthique	Jurassic - Actuel
<i>Loxoconcha elliptica</i>	Arcachon	Podocope - Cytheroidea	endobenthique	Trias - Actuel
<i>Cytheropteron alatum</i>	Gascogne	Podocope - Cytheroidea	endobenthique	Crétacé - Actuel
<i>Krithe sp.</i>	Gascogne	Podocope - Cytheroidea	endobenthique	Crétacé - Actuel
<i>Argilloecia conoidea</i>	Gascogne	Podocope - Cypridoidea	endobenthique	Crétacé - Actuel
<i>Cytherella lata</i>	Gascogne	Podocope - Cytherelloidea	endobenthique	Trias - Actuel
<i>Cyindroleberis mariae</i>	Arcachon	Myodocope - Cyindroleberidoidea	nectobenthique	Silurien - Actuel

Tableau 4 : Principales caractéristiques des espèces étudiées, rang évolutif (McKenzie et al., 1999).

Espèces	Appareils respiratoires		
	Scaphognathites	Cœur	Branchies
<i>Leptocythere castanea</i>	+	-	-
<i>Cyprideis torosa</i>	+	-	-
<i>Loxoconcha elliptica</i>	+	-	-
<i>Cytheropteron alatum</i>	+	-	-
<i>Argilloecia conoidea</i>	+	-	-
<i>Cytherella lata</i>	+	-	-
<i>Krithe sp.</i>	+	-	-
<i>Cyindroleberis mariae</i>	+	+	+

Tableau 5: Appareils respiratoires des espèces d'ostracodes étudiées.

I - LES ANIMAUX

1- Ostracodes

L'ensemble de notre étude a été effectué sur un total de 450 ostracodes (podocopes et myodocopes) et concerne huit différentes espèces (Fig. 41) dont les principales caractéristiques écologiques, évolutives et physiologiques sont résumées dans les tableaux 4 et 5. Nous nous sommes intéressés dans un premier temps au groupe d'ostracodes le plus primitif ou simple en terme d'équipement de l'appareil d'échange et de transport de gaz respiratoires : les podocopes dont sept espèces (représentant 350 animaux) ont été étudiées ici. Ces ostracodes podocopes proviennent de deux milieux différents (Fig. 41) :

- Trois espèces vivent dans le Bassin d'Arcachon : *Cyprideis torosa*, *Loxoconcha elliptica*, *Leptocythere castanea*
- Quatre espèces vivent dans les zones profondes du Golfe de Gascogne : *Cytherella lata*, *Argilloecia conoidea*, *Cytheropteron alatum* et *Krithe sp.*

Ce choix se justifie dans une démarche comparative : nous avons choisi ces ostracodes podocopes car ils présentent le même mode de vie (endobenthiques) et les mêmes caractéristiques physiologiques (appareil ventilatoire uniquement) et leur distribution dans la classification est suffisamment large pour recouvrir l'ensemble des podocopes marins (Tableau 1). De plus, ils vivent dans deux environnements écologiquement différents. Le Bassin d'Arcachon est un milieu lagunaire subissant une variation régulière des paramètres physico-chimiques par opposition au milieu bathyal du Golfe de Gascogne plus stable (Température, Salinité) mais présentant l'ensemble des caractéristiques extrêmes influençant la physiologie des animaux (Pression). Nous avons pensé que cette approche, doublée d'une analyse des principes physiologiques fondamentaux, pourrait nous apporter une meilleure représentativité des phénomènes étudiés.

L'étude d'une autre espèce provenant du Bassin d'Arcachon : le myodocope cylindroleberididae *Cylindroleberis mariae* (Tableau 1 et 41) nous a permis ensuite de compléter notre étude comparée de la physiologie respiratoire chez les ostracodes. En effet, cette espèce possède un appareil respiratoire plus évolué que les podocopes avec un système branchial, cardiaque et circulatoire complet. Que ce soient par leurs différences physiologiques ou bien par leur mode de vie nectobenthique (migration dans la colonne d'eau durant la nuit), l'étude de *C. mariae* a été menée dans une perspective évolutive en comparaison avec le groupe des podocopes. La taille des animaux varie entre 200 à 800 µm pour les podocopes, entre 1-2 mm pour le myodocope *C. mariae*.

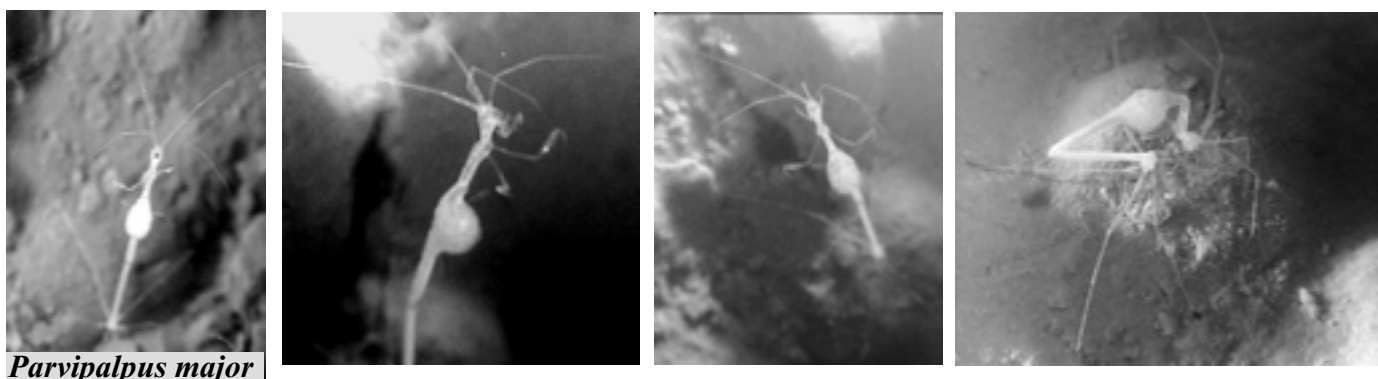


Figure 42: L'amphipode caprellidé *Parvipalpus major*, photos issues du dispositif expérimental d'analyse vidéo, au laboratoire.

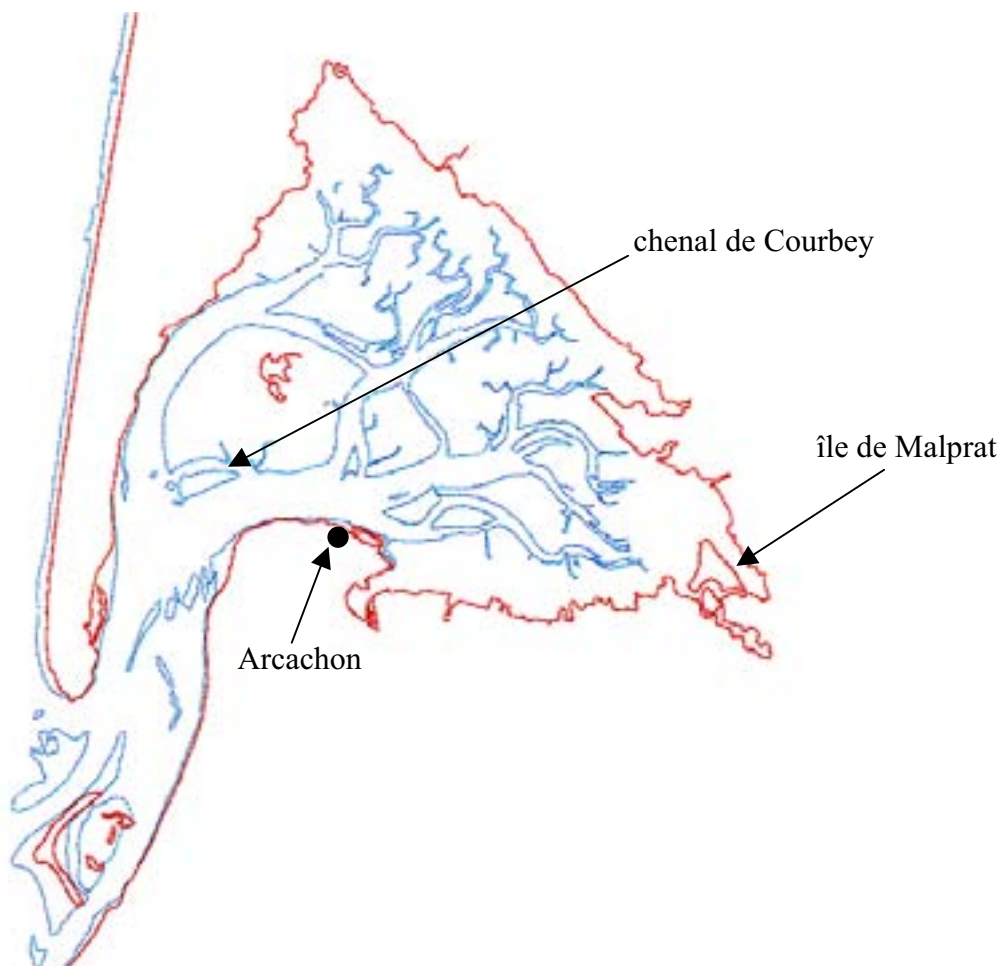


Figure 43: Localisation des zones de prélèvements sur le Bassin d'Arcachon.

2- Caprellidés

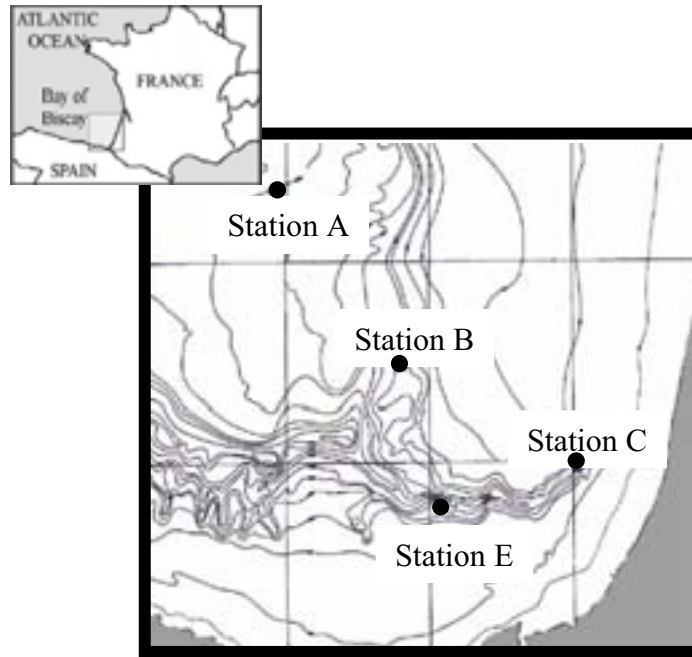
Ce travail a été réalisé sur six spécimens du caprellidé profond *Parvipalpus major* vivants et intacts (taille entre 1 – 1.5 cm ; Fig. 42). Nous avons trouvé ce caprellidé exactement dans les mêmes carottes que les podocopes endobenthiques, profonds provenant du Golfe de Gascogne. Cet animal possède une anatomie totalement originale et colonise des eaux bien oxygénées, à quelques millimètres des podocopes qui eux vivent dans une eau interstitielle hypoxique. Aucune information n'étant connue sur leur écologie, nous avons tout d'abord étudié leur comportement et mode de vie en respectant au maximum la représentativité de leur cadre de vie au laboratoire. Nous avons ensuite réalisé une étude morpho-fonctionnelle pour mieux appréhender leur stratégie d'approvisionnement en oxygène.

3 - Modes de prélèvement

Bassin d'Arcachon

Les prélèvements des ostracodes podocopes ont été effectués sur l'île de Malprat située dans le delta de la Leyre (Fig. 43). Cette zone est caractérisée par la présence de crassats (étendues vaseuses) riches en herbiers à *Zostera noltii* (zostères naines) et subit une émigration complète deux fois par jour (zone de balancements des marées). La faune abondante d'ostracodes est liée à la présence des herbiers à zostères et à celle de sédiments fins de type sablo-vaseux (Carbonel, 1978, 1980). Les échantillonnages ont été effectués à différentes périodes entre 2000 et 2003, à marée basse (température de l'eau, 10-15°C, salinité, 20-30 ‰). Les zones de prélèvements ont été au préalable choisies en fonction de la densité d'ostracodes présente. Les premiers centimètres de sédiment ont été d'une part récoltés à la main pour les spécimens destinés à l'étude de la ventilation dans le dispositif expérimental d'analyse vidéo. Des prélèvements ont également été effectués à l'aide des tubes en verre (*voir section gradient d'oxygénation du sédiment dans ce chapitre*). L'ensemble des carottes de sédiments obtenu a été utilisé pour l'étude du positionnement des animaux dans le gradient d'oxygénation du sédiment dans lequel ils vivent.

Les ostracodes myodocopes vivent dans les chenaux à zostères marines (*Zostera marina*) au niveau de sédiments, toujours immergés riche en phytodétritus (température de l'eau, 12-24°C, salinité, 28-32 ‰). Ces animaux ont été prélevés par dragage du fond des chenaux à marée basse (chenal de Courbey, profondeur environ de 4m, Fig. 43). L'ensemble de la faune collectée était ensuite placée dans une glacière isotherme puis transportée au laboratoire. Tous les prélèvements ont été transportés en moins de deux heures au laboratoire



Sites	Coordonnées géographiques		Profondeurs
A	44°10,24' N	2°20,06' W	1000
B	43°50,31' N	2°03,47' W	500
C	43°40,08' N	1°38,87' W	250
E	43°36,09' N	1°48,03' W	750

Figure 44 : Localisation des zones de prélèvements dans le Golfe de Gascogne et Canyon de Capbreton. Coordonnées géographiques et profondeurs (en mètres) des stations d'échantillonnage dans le Canyon de Capbreton.

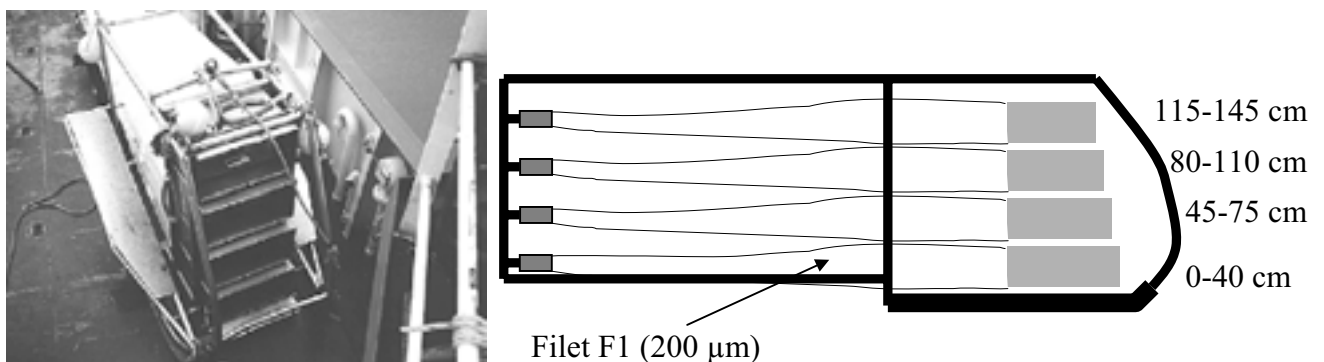


Figure 45: Traîneau suprabenthique Macer-GIROQ utilisé lors de la collecte quantitative des ostracodes profonds dans le Golfe de Gascogne.

en maintenant les échantillons à la température du milieu de prélèvement et les bacs de maintenance étaient ensuite placés dans un chambre climatisée maintenue à l'obscurité et à une température de 10°C.

Golfe de Gascogne

Les prélèvements ont été effectués lors des missions OXYBENT 10 (Avril 2000)-Sedican 1 (avril 2000 ; juin, septembre 2001) réalisées dans le golfe de Gascogne. Cette étude était inscrite dans le cadre du programme de recherche OXYBENT dont l'objectif était d'établir une calibration des marqueurs fossilisables de l'oxygénation du fond. Les stations échantillonnées étaient situées environ entre 200 à 1000 m de profondeur. Une partie des stations étaient situées dans le canyon de Capbreton, les autres au niveau de la pente Atlantique (Fig. 44).

La température de l'eau au niveau de ces stations variaient entre de 10 – 11 °C et la salinité était de 35 ‰.

Prélèvements quantitatifs : Les prélèvements d'ostracodes vivants ont été effectués au moyen d'un traîneau suprabenthique Macer-GIROQ (Dauvin et al., 1995) permettant un échantillonnage des premiers centimètres dans le sédiment jusqu'à 1,45 m dans la colonne d'eau (Fig. 45). Il est composé de quatre filets superposés de type planctonique (F1-F4, de bas en haut). Le filet du bas (F1) possède une maille de 200 µm afin d'optimiser la collecte des ostracodes, les autres filets avaient un maillage de 500 µm pour récupérer la faune suprabenthique analysée pour une autre étude. Le sédiment ainsi collecté était maintenu à la température de 7.5°C dans un réfrigérateur spécialement embarqué à bord. La diminution de la température de 10°C à 7.5°C avait pour but de limiter partiellement les effets de la décompression liés à la pression hydrostatique en compensant l'effet pression sur la fluidité des membranes par une diminution de température (Somero, 1991). En fin de mission, les échantillons étaient acheminés en 2h au laboratoire et placés dans une chambre froide climatisée maintenue à 8°C. Le temps écoulé entre le prélèvement et la mise en stabulation à la Station Marine d'Arcachon était compris entre 48 et 72h. A noter, que le traîneau suprabenthique permet également la collecte quantitative des caprellidés *Parvipalpus major*. Les individus collectés sont systématiquement endommagés (appendices postérieurs, péripodes 5-7 systématiquement cassés) et ne peuvent rester vivants mais ils ont néanmoins été utilisés (fixés au formol) pour une autre étude concernant la dynamique de population de

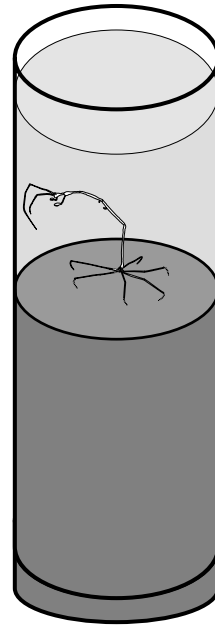


Figure 46 : Carottier multitube utilisé pour le prélèvement qualitatif des spécimens de caprellidés profonds *Parvipalpus major*.

la faune suprabenthique dans le Canyon de Capbreton (Corbari et Sorbe, 2001).

Prélèvements qualitatifs : Les spécimens de caprellidés *Parvipalpus major* ont été prélevés au moyen d'un carottier multitube (Fig. 46 ; Barnett et al., 1984). Ce carottier permet le prélèvement simultané de 8 carottes de sédiment (80 cm de long, diamètre 10 cm) en conservant intacte l'interface eau-sédiment. C'est essentiellement grâce à cette particularité que les spécimens du caprellidés *Parvipalpus major* ont pu être retrouvés intacts en position de vie, fixés au niveau de l'interface eau-sédiment. Les spécimens de *Parvipalpus major* ont été maintenus vivants sur le bateau jusqu'au laboratoire selon la même méthodologie décrite précédemment pour les ostracodes. Il est important de souligner, qu'à notre connaissance aucun spécimen de *Parvipalpus major*, n'avait été remonté intact et vivant, lors de prélèvements en milieu marin profond.

A noter, que les carottes de sédiment sont également un moyen de prélèvement qualitatifs pour les ostracodes endobenthiques, leur distribution dans le sédiment étant analysées pour d'autres études écologiques et paléo-écologiques.

4 - Stabulation

Tous les prélèvements étaient placés dans une chambre thermostatée maintenue à une température entre 8-10 °C selon les prélèvements. Des aquariums de maintenance (longueur = 42 cm , largeur = 18 cm, hauteur = 17 cm ; Fig. 47) y étaient installés avec un renouvellement en eau constante à la pression partielle saturante en oxygène de 21 kPa (pH = 7,8-8). Ces aquariums ont été spécialement créés selon différents paramètres permettant d'optimiser la maintenance des ostracodes.

- Le fond de tous les aquariums était composé d'une couche de sédiment qui reposait sur une membrane phytoplanktonique (maille 100 µm) la séparant d'un compartiment inférieur contenant des coquilles d'huîtres permettant de tamponner d'éventuelles variations de pH.

- L'aquarium destiné aux échantillons du Bassin d'Arcachon (sauf les myodocopes) était équipé d'un système simulant un cycle journalier de marée (alternance toutes les 10 h) avec à marée basse, avec émergence complète du sédiment pendant deux heures (le sédiment restait toujours humide en émergence)

- Les échantillons du Golfe de Gascogne étaient eux aussi placés dans un aquarium de maintenance où la colonne d'eau au-dessus du sédiment était entièrement renouvelée une fois par jour par abaissement du niveau et renouvellement partielle de l'eau interstitielle du

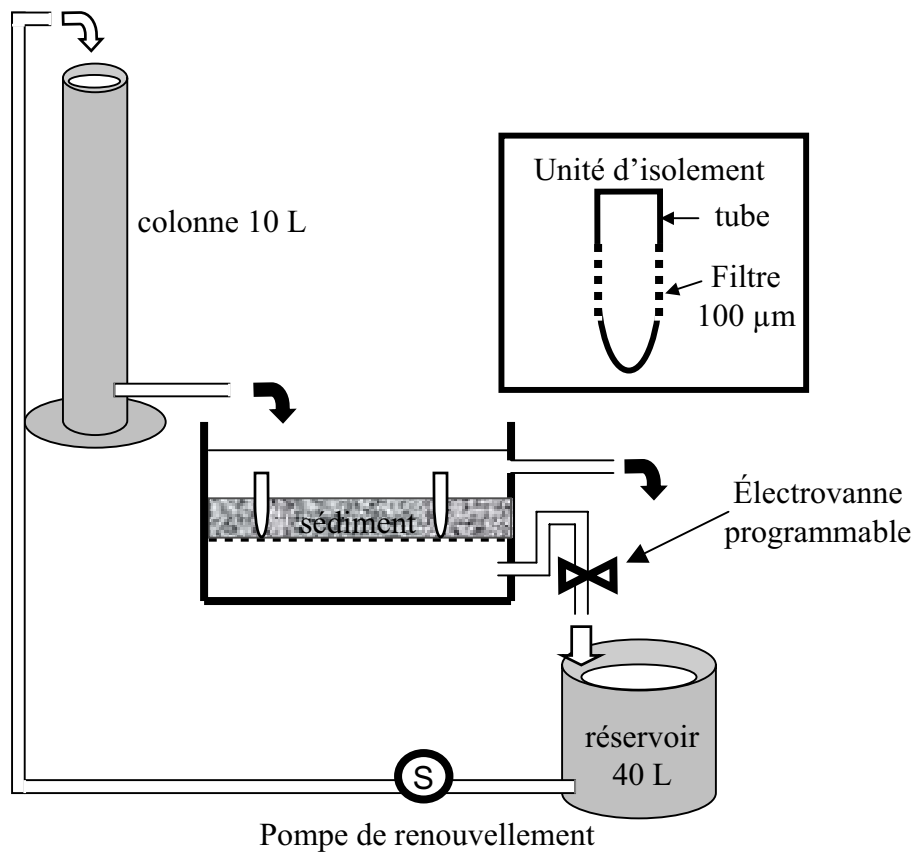


Figure 47: Principe de fonctionnement des bacs de maintenance permettant de mimer l'alternance des marées et/ou de renouveler tout ou partiellement l'eau interstitielle contenue dans le sédiment.

sédiment. Il n'y avait toutefois pas de périodes d'exondation du sédiment comme dans le cas des échantillons du Bassin.

Concernant les ostracodes myodocopes du Bassin d'Arcachon, les prélèvements étaient tamisés grossièrement pour enlever les débris (coquilles etc..) ou animaux (oursins etc..) de grosses tailles. La fraction obtenue était ensuite divisée et disposée dans des aquariums classiques de maintenance (30 X 30 X 30 cm). Une hauteur de 5-10 cm était déposée sur le fond de l'aquarium laissant ainsi une colonne d'eau suffisante pour la nage des animaux. Dans une salle climatisée maintenue à 15°C, chaque aquarium recevait un renouvellement permanent en eau de mer (salinité = 30 ‰).

Les caprellidés ont été maintenus au laboratoire dans la chambre thermostatée à 10°C dans un aquarium (10 X 10 X 20 cm) avec un renouvellement en eau permanent. Ces animaux ont été maintenus au laboratoire au maximum 3 semaines.

A noter, que ce soit dans le bassin d'Arcachon ou dans le Golfe de Gascogne, le protocole de base mis en place a été celui du maintien de la chaîne de froid depuis le lieu de prélèvement jusqu'au dispositif expérimental en passant par les conditions de stabulation. Cette approche nous a permis de garder jusqu'à plus de six mois (maximum de 12 mois) des animaux du bassin d'Arcachon au laboratoire et pendant 3 mois des animaux venant de profondeur atteignant pratiquement 1000 m.

5 - Tri des animaux

Le tri était réalisé sous loupe binoculaire en gardant les échantillons sur une platine thermostatée à 9°C. Les ostracodes podocopes étaient ensuite isolés dans des tubes en plastiques (diamètre 1 cm, hauteur 10 cm) possédant deux ouvertures latérales munies de membrane phytoplanctonique (maille 100 µm). Ces unités d'isolement (Fig. 47) étaient enfoncés par la suite dans le sédiment de chaque aquarium de maintenance afin de faciliter l'utilisation des animaux sélectionnés avant les expérimentations. Les ouvertures permettaient une bonne équilibration du milieu avec l'eau interstitielle du sédiment ainsi qu'un apport éventuel de matière organique participant à la nutrition des animaux. Quant aux ostracodes myodocopes, après le tri, les animaux étaient placés dans des aquariums de petites tailles (5 X 5 X 10 cm) avant leur installation dans le dispositif expérimental.

II - METHODES D'ANALYSES - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX

L'étude de la relation ostracode-oxygène repose sur deux principes d'analyse :

- l'analyse des capacités intrinsèques des ostracodes à réguler l'oxygénation de leur milieu intérieur face à des changements d'oxygénation était basée sur la quantification de l'activité ventilatoire et/ou cardiaque.
- l'adaptation comportementale en relation avec le mode de vie des différents ostracodes a également été analysée par (1) étude du positionnement dans des gradients d'oxygénation (analyse de préférendum), (2) étude du comportement par analyse en ligne et différée.

1 - Adaptation ventilatoire et cardiaque

Cette analyse concerne l'ensemble des ostracodes étudiés (podocopes et myodocopes) et a été effectuée dans le dispositif expérimental d'analyse-vidéo. Les animaux ayant une taille (entre 300 μm à 2 mm) et une anatomie interdisant l'application de techniques expérimentales classiques (prélèvement de sang, pose de capteurs divers), l'utilisation d'un dispositif vidéo adapté à l'étude des ostracodes a été mis au point pour aborder divers aspects de leur physiologie respiratoire et plus particulièrement l'analyse de leur activité ventilatoire et cardiaque (dans le cas des myodocopes) dans des conditions contrôlées où seule la pression partielle d'oxygène était modifiée.

Dispositif d'analyse-video

L'idée générale était de travailler sur des animaux libres dans leurs mouvements, placés dans un milieu recréant des conditions écologiquement réalistes et ignorant au maximum de l'activité expérimentale développée autour d'eux.

Le schéma de principe du dispositif est présenté sur la figure 48. L'absence de stimulations mécaniques par isolation des vibrations ambiantes a été recherchée pour limiter le stress pouvant être liés au dispositif expérimental. Pour cela, l'ensemble du dispositif a été monté sur trois tables, dont deux gigognes, isolées mécaniquement. La table sur laquelle se

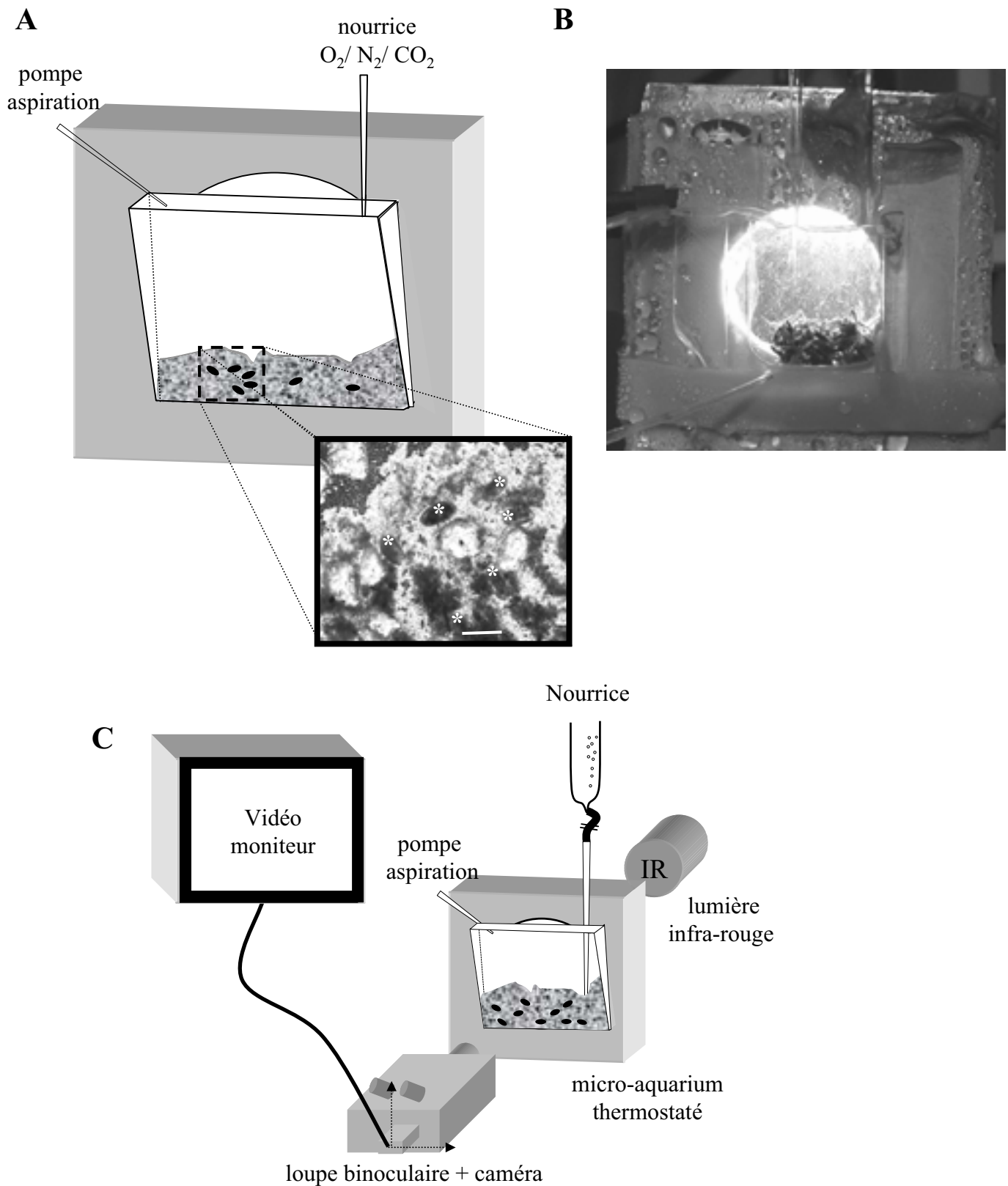


Figure 48 A- Micro-aquarium fabriqué à partir d'une lamelle de microscope collée sur une plaque de verre. Image vidéo in-situ des ostracodes, obtenue à partir du dispositif. Les astérisques blanches indiquent la position des animaux, échelle = 500 μ m. **B-** photo du micro-aquarium **C-** Dispositif expérimental permettant l'observation par transparence d'ostracodes se déplaçant librement dans un micro-aquarium.

trouvent les animaux, pèse 150-200 kg et était suspendue sur un coussin d'air.

Une semaine avant le début de chaque expérience, un groupe de 12-15 animaux était placé avec leur substrat d'origine (sable, vase et phytodétritus) dans le micro-aquarium. Cet aquarium a été fabriqué au laboratoire avec une lamelle de microscope (1 X 1 cm) fixée sur une plaque de verre (10 X 6 X 0,5 cm) grâce à un support en Sylgard (Dow Corning), gel non toxique (Fig. 48 A). Le dépôt du gel en Sylgard a permis d'obtenir une épaisseur d'aquarium allant de bas en haut de 0 mm à quelques mm (1-3 mm selon le type d'ostracode observé). Le volume d'un aquarium était généralement d'environ 500 μL avec un taux de renouvellement de l'eau de 10-20 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Bien que le volume de l'aquarium soit faible, les animaux pouvaient se déplacer et s'enfouir librement dans leur sédiment d'origine. A noter que pour les mydocopes du Bassin d'Arcachon de taille supérieure aux podocopes, l'aquarium a été modifié (volume = 1.2 mL, épaisseur, 3 mm; taux de renouvellement de l'eau = 60-100 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$) afin de permettre la complète liberté de mouvements des animaux dans le dispositif. Les animaux vivants dans un milieu peu ou pas éclairé, nous avons décidé de travailler en lumière infra-rouge (IR) à 880 nm. Nous avons donc placé un éclairage infra-rouge à contre jour, face à la caméra et de l'autre côté de l'aquarium afin d'observer les ostracodes par transparence et de ce fait visualiser les mouvements des scaphognathites et du cœur. Au-dessous de 800 nm, on considère qu'aucun animal ne peut utiliser ces longueurs d'ondes pour former des images (Schmidt-Nielsen, 1975).

L'aquarium était installé verticalement sur un dispositif thermostaté construit au laboratoire permettant le maintien de la température à $10 \pm 0.1^\circ\text{C}$ par effet Peltier (Fig. 48 B). La composition en oxygène ainsi qu'en azote et dioxyde de carbone de l'eau était réglée par un système automatisé (fabriqué au laboratoire par P. Ciret) assurant l'équilibration de l'eau dans les nourrices (Volume = 1L) perfusant le micro-aquarium grâce à un tube en verre. L'obtention de mélanges gazeux aux proportions précises était assurée par l'utilisation de régulateurs de débits massiques (TYLAN, modèle FC-260). Cet ensemble permet de définir :

- le débit total du mélange gazeux (O_2 , CO_2 , N_2) en $\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$ (200 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$)
- la fraction partielle des trois gaz primaires (en % du débit total)
- la durée de séquences d'expositions lors d'expériences automatisées

La composition de la phase gazeuse était vérifiée périodiquement avec un analyseur paramagnétique à oxygène, Servomex 1100A, calibré avec des mélanges de hautes précisions ($\text{FO}_2 = 3.99 \pm 0.04 \%$, AGA). Durant les expériences, les pressions partielles en O_2 (PO_2) varient entre 2-40 kPa (27-540 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ou 0.9-17.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Les pressions partielles en CO_2

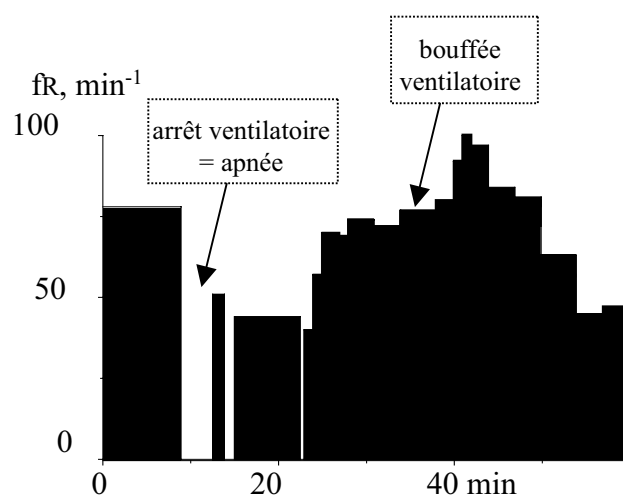


Figure 49: Activité ventilatoire (fR) d'un individu de *Cyprideis torosa* (Podocope) en condition normoxique (21 kPa). Ce suivi sur une heure est représentatif du mode de ventilation irrégulier composé d'apnée (arrêt de la ventilation) et de bouffées de ventilation de durées et d'intensités variables. Ces deux paramètres ont été utilisés afin de caractériser l'activité ventilatoire des ostracodes pendant des expositions de 3 jours à différents niveaux d'oxygénation.

(PCO₂) étaient maintenues à 0.1 kPa (valeur de référence dans les milieux en équilibre à l'air) pour un pH = 7.9-8.0 suivant l'alcalinité titrable de l'eau du Bassin d'Arcachon qui variait suivant les périodes de l'année dans la gamme de 1.8-2.0 meq. L⁻¹.

Les enregistrements étaient effectués grâce à une loupe trinoculaire (Leitz MZ12) placée en position horizontale, montée sur une colonne à crémaillère et un plateau horizontal mobile (plateau gras) permettant des mouvements verticaux et latéraux de hautes précisions (Fig. 48C). Cette loupe trinoculaire était équipée soit avec une caméra noir et blanc filmant dans l'infra-rouge (Ikegami CDD Camera, ICD42B) ou bien avec une caméra couleur (SONY, Exwave digital color video). Les images étaient transmises à un moniteur haute définition (Sony HR Trinitron PVM 1453MD). Les données étaient enregistrées sur différents supports vidéo ; sous format S-VHS (magnétoscope JVC, S-VHS, HRS75000MS) ou bien sous format DV (magnétoscope SONY DV DHR-1000B).

Néanmoins, les ostracodes étaient souvent en mouvement et leur observation, de précision, n'a pu être automatisée. Par conséquent, des mesures de l'activité ventilatoire ont été effectuées visuellement. Enfin il reste à souligner qu'au cours de cette étude, un total d'environ 1000 heures d'observations a été effectué (750 heures pour le groupe des podocopes et 250 pour celui des myodocopes) et environ 100 heures d'enregistrements.

Méthode d'analyse

Par analogie avec les crustacés modernes pour lesquels l'activité ventilatoire peut être mesurée par la fréquence des battements du scaphognathite, l'analyse de la ventilation des ostracodes a été mesurée à partir de l'évolution de la fréquence des battements de leurs scaphognathites. Chez les décapodes, McMahon et al. (1974) a montré qu'il existait une relation directe entre la fréquence ventilatoire et le débit ventilatoire. L'activité ventilatoire des ostracodes est caractérisée par un mode irrégulier avec une alternance de périodes de ventilation active entrecoupée, par des périodes d'apnée de durées variables (de quelques secondes à plus d'une heure). La figure 49 illustre les principales caractéristiques de la ventilation des ostracodes (myodocopes et podocopes) pendant une heure d'observation dans des conditions normoxiques. Afin d'appréhender la réponse des ostracodes face aux changements d'oxygénation de l'eau, deux procédures ont été appliquées :

Evolution de l'activité ventilatoire et cardiaque lors de séries d'expositions brèves.

Ces expériences ont été réalisées chez des animaux (podocopes et myodocopes) adaptés aux conditions expérimentales depuis une semaine. Elles ont consisté à analyser les

Eau de mer (35 ‰)						
PO ₂	T°C =10°C			T°C =18°C		
kPa	mmol.l ⁻¹	mg.l ⁻¹	ml.l ⁻¹	mmol.l ⁻¹	mg.l ⁻¹	ml.l ⁻¹
40	0.54	17.19	12.03	0.46	14.72	10.03
21	0.28	9.02	6.32	0.24	7.68	5.38
10	0.13	4.30	3.01	0.11	3.52	2.46
3	0.040	1.29	0.90	0.034	1.09	0.76

Tableau 6 : Équivalence des concentration et pressions partielles en oxygène à 10°C (coefficient de solubilité $\alpha_{O_2}= 13.43 \mu\text{mol.l}^{-1} . \text{kPa}^{-1}$) et à 18°C (coefficient de solubilité $\alpha_{O_2}= 11.51 \mu\text{mol.l}^{-1} . \text{kPa}^{-1}$).

capacités adaptatives de l'activité ventilatoire d'animaux exposés pendant des périodes de 2 h à différentes PO_2 imposés dans l'ordre suivant : 21, 10, 6, 4, 3, 2, 21 kPa (jusqu'à 40 kPa pour les mydocopes). La méthode résidait dans la mesure de la fréquence des battements du scaphognathite, fréquence ventilatoire, fR (min^{-1}) pour les podocopes et mydocopes, et de la fréquence cardiaque pour les mydocopes fH (min^{-1}) en fonction des pressions partielles en oxygène de l'eau (PO_2 comprises entre 2 et 40 kPa). Les fréquences ventilatoires et cardiaques ont été mesurées à la fin des paliers d'oxygénation de 2h, au cours de la dernière demi-heure du palier. Les mesures étaient faites de manière aléatoire dans le groupe d'ostracodes sans choix préalable des animaux. De ce fait, pour tenir compte des animaux qui ne ventilent pas au moment de la mesure, nous avons également calculé la fraction (%) d'animaux en apnée.

Toutes les valeurs mesurées ont été comparées aux valeurs de référence normoxique (21 kPa). Les équivalences entre kPa et autres unités usuelles sont résumées dans le tableau 6 en fonction de la température.

Evolution de l'activité ventilatoire et cardiaque lors d'expositions prolongées à faibles niveaux d'oxygénation.

Les expériences ont été réalisées chez des animaux adaptés aux conditions expérimentales. Elles ont consisté à analyser les capacités adaptatives de l'activité ventilatoire et cardiaque sur des animaux (podocopes et mydocopes) pendant des périodes de trois jours en normoxie à $PO_2 = 21$ kPa et en hypoxie à $PO_2 = 3$ ou 4 kPa. Au cours de ces expositions longues, l'activité ventilatoire a été mesurée pour chaque animal durant une heure. A partir de ce suivi (Fig. 46), différents paramètres ont alors été déterminés afin de caractériser le mode de ventilation : la fréquence ventilatoire fR (min^{-1}), la fréquence cardiaque fH (min^{-1}), le nombre de bouffées de ventilation (h^{-1}), la durée moyenne des bouffées de ventilation ($\text{min}.h^{-1}$), la durée totale de la ventilation ($\%.h^{-1}$ ou $\text{min}.h^{-1}$) et le pourcentage d'animaux en apnée, c'est-à-dire ne ventilant pas pendant une heure (%).

2 - Etude comportementale

Les groupes d'ostracodes (podocopes et mydocopes) étudiés ici possèdent des modes de vies différents : les podocopes sont inféodés au sédiment dans lequel ils vivent, et les mydocopes, ostracodes nectobenthiques, vivent durant la journée sur le sédiment avec lequel ils construisent un nid en agglutinant grains de sable et phytodétritus. Par contre, ils migrent dans la colonne d'eau durant la période nocturne. De ce fait, nous nous sommes intéressés à la

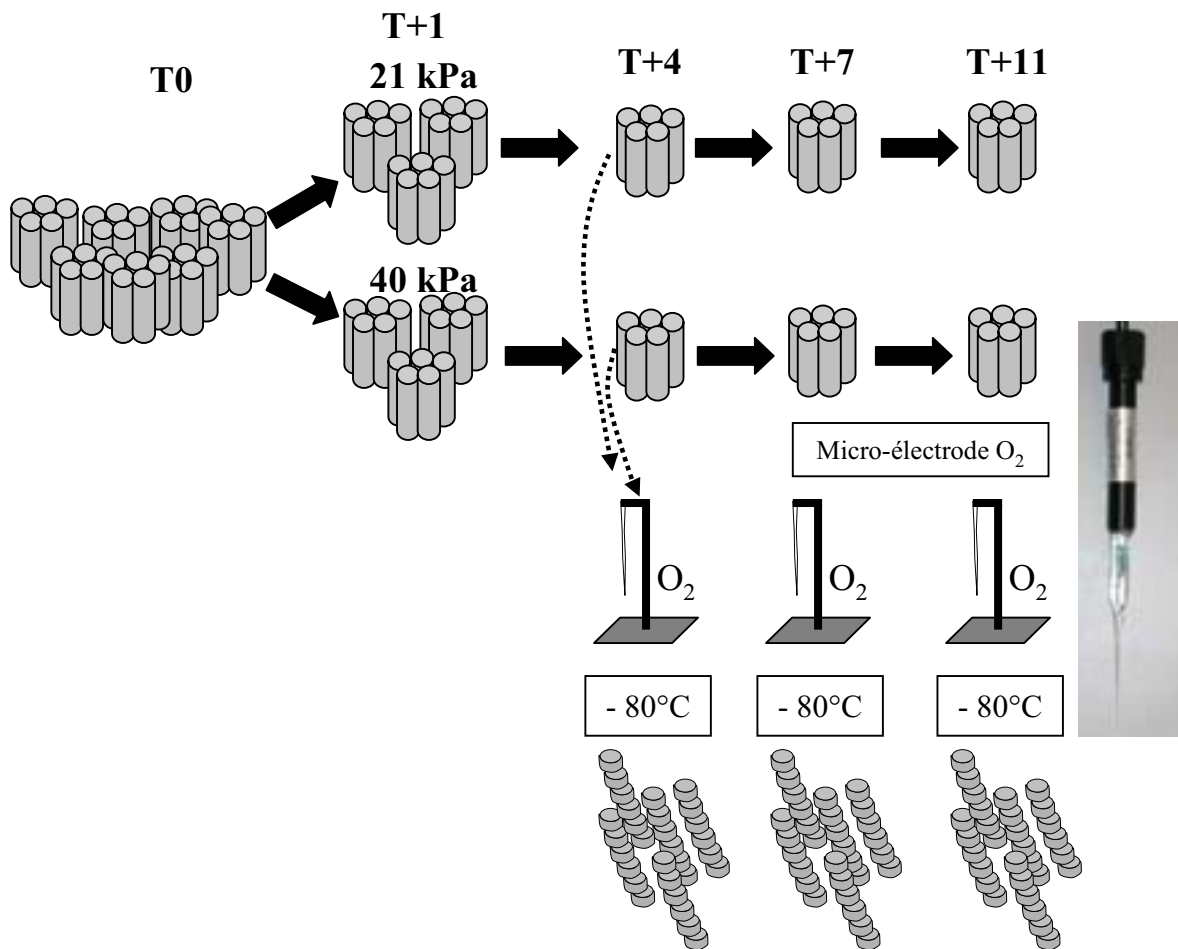


Figure 50: *Podocopes et gradient d'oxygénation du sédiment.* Protocole d'exposition à différentes pressions partielles en oxygène, de mesure des gradients d'oxygénation, de conservation et de découpe des carottes de sédiments.

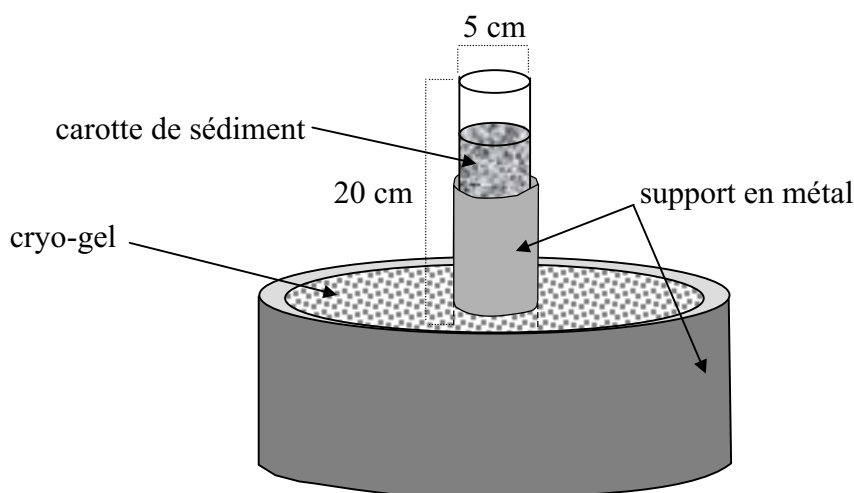


Figure 51: *Podocopes et gradient d'oxygénation du sédiment.* Dispositif expérimental de congélation rapide des carottes. Ce dispositif est maintenu à -80°C avant l'utilisation afin d'accélérer la congélation de la carotte en position verticale sans perturber le sédiment. Par hypothèse, les animaux sont saisis par le froid et doivent bouger un minimum avant congélation totale.

participation de ces modes de vie dans la régulation en oxygène du milieu intérieur. Pour cela, différents protocoles expérimentaux ont été mis au point que ce soit pour les myodocopes ou pour les podocopes.

Podocopes et gradient d'oxygénation du sédiment

Les sédiments présentent naturellement un gradient d'oxygénation dû à la pénétration de l'oxygène venant de l'eau et proposent ainsi sur quelques millimètres ou centimètres, toute une gamme de pressions partielles allant de 21 kPa (normoxie) à 0 kPa. Considérant le mode de vie endobenthique des podocopes sur lesquels nous avons travaillé, nous avons voulu savoir comment les ostracodes se positionnent dans cette large gamme d'oxygénation offerte par le sédiment. Pour cela, nous avons mis au point un protocole de manipulation expérimentale des gradients d'oxygène en parallèle avec le positionnement des ostracodes dans le sédiment. Un lot de 35 carottes de sédiment a été prélevé en août dans la zone de l'île de Malprat (Bassin d'Arcachon). Les carottes ont été prélevées grâce à des tubes en verre de 20 cm de long, 5 cm de diamètre (15 cm de sédiment avec 5 cm de colonne d'eau surnageante). La figure 50 résume l'ensemble de ce protocole. Au laboratoire, l'ensemble des carottes a été mis dans une chambre climatisée à 18°C et chaque carotte a été placée sous un cathéter permettant un renouvellement continu de l'eau surnageante en condition normoxique (21 kPa) en prenant soin de ne pas perturber l'interface eau-sédiment. Deux heures après le prélèvement, les profils d'oxygène du sédiment ont été immédiatement mesurés sur un lot de 5 carottes (T0). Le lendemain (T+1), 15 carottes ont été alimentées en eau hyperoxique (40 kPa) afin de faire varier le gradient d'oxygénation (les 15 autres carottes restant alimentées en eau normoxique). Les gradients d'oxygénation ont été respectivement mesurés sur 5 carottes normoxiques et 5 carottes hyperoxiques à 4 jours (T+4) ; 7 jours (T+7) et 11 jours (T+11). Après chaque mesure de gradient, les carottes ont été soigneusement congelées dans la minute à - 80°C afin de figer le positionnement des ostracodes au sein du sédiment (Fig. 51). Les carottes étaient congelées dans une position verticale au moyen d'un support spécialement fabriqué pour optimiser la congélation du sédiment sans perturber l'interface eau-sédiment et de ce fait la distribution des ostracodes dans ces carottes (Fig. 51). Après une congélation totale, les carottes ont été stockées à - 20 °C. A posteriori, pour déterminer le positionnement des ostracodes, chaque carotte a été découpée en strates de 400 µm d'épaisseur au moyen de lames de rasoir et d'un outil spécialement fabriqué avec un micromètre de précision depuis + 1 cm (dans la colonne d'eau) jusqu'à - 1 cm (dans le sédiment). Les ostracodes étaient ensuite

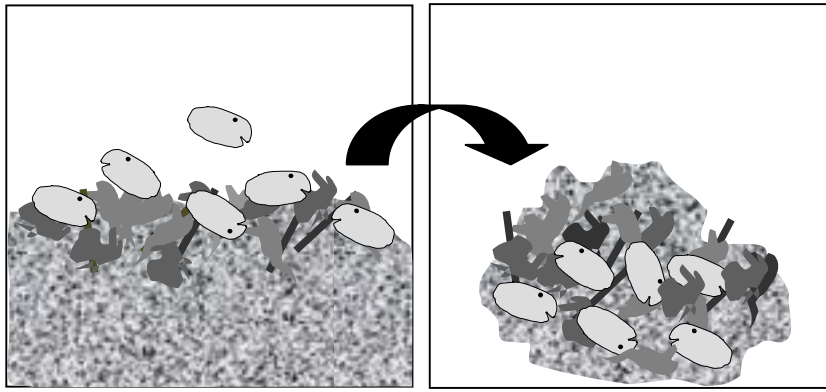


Figure 52: Schéma de principe de la formation d'un nid par le myodocope *Cylindroleberis mariae*.

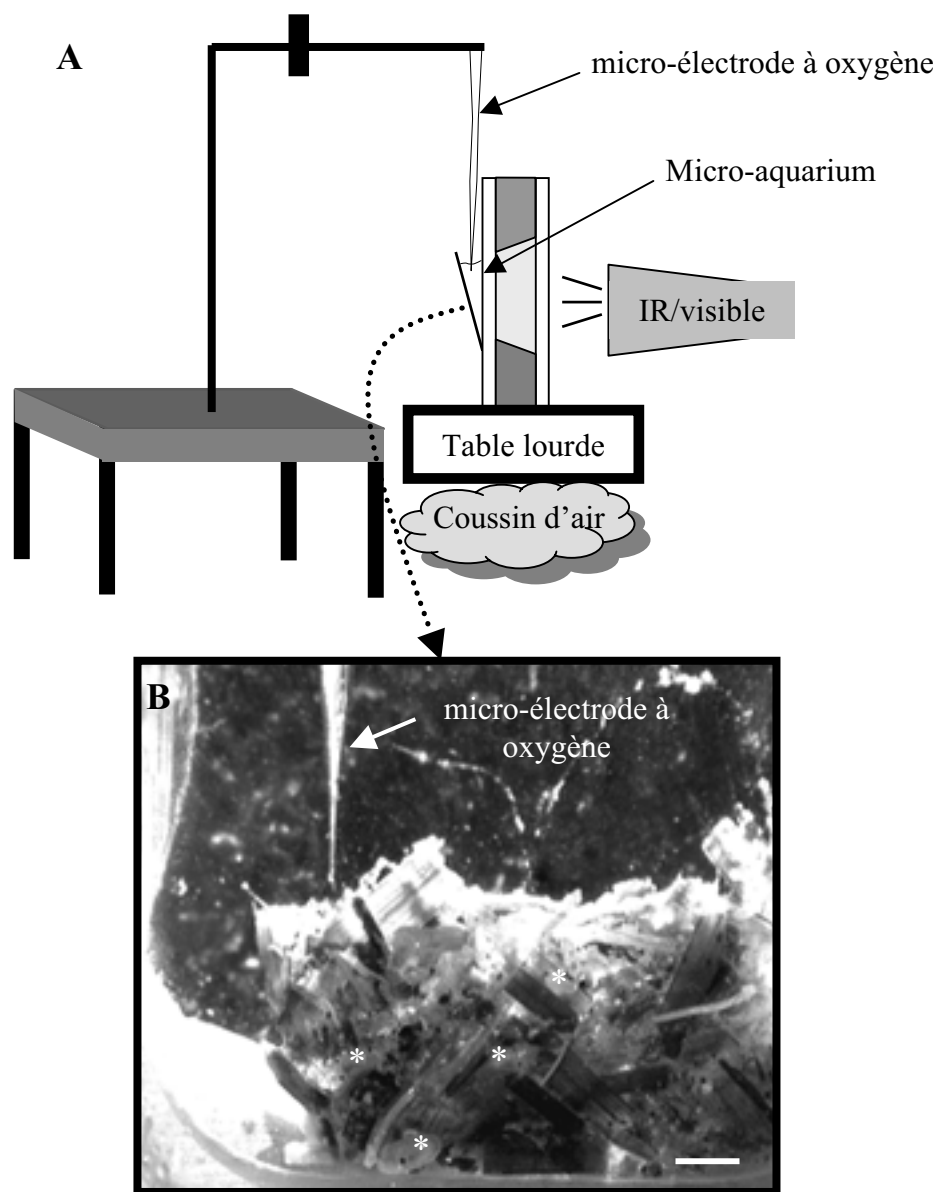


Figure 53 : Gradient d'oxygénation des nids. **A-** Schéma de principe du dispositif expérimental de l'oxygène. A noter que le montage de l'électrode est placé sur une autre table afin de ne pas perturber les animaux lors de la mesure. **B-** Photo in-situ du nid lors de la mesure de l'oxygène. Astérisques blanches symbolisent les animaux. Échelle = 2 mm.

dénombrés pour chaque strate sous la loupe binoculaire.

Les profils d'oxygène dans le sédiment ont été mesurés à l'aide d'une micro-électrode polarographique (UNISENSE Microsensors) guidée par micromanipulateur (PRIOR ; pas = 0.2 mm). Des essais préliminaires au cours desquels nous avons mesuré 5 profils d'oxygène du sédiment, ont permis de mettre en évidence l'homogénéité de leur distribution donc nous n'avons mesuré qu'un seul profil par carotte dans nos conditions expérimentales.

Myodocopes et rythme circadien

Gradient d'oxygénation des nids

Les myodocopes de la famille des *Cylindroleberididae* ont la particularité durant la journée d'agglutiner le sédiment et les débris d'algues en une sorte de nid dans lequel ils s'installent en groupe. *Cylindroleberis mariae*, appartenant à cette famille possède également cette particularité que nous avons d'ailleurs observé au bout de 4-5 jours dans le micro-aquarium (Fig. 52). Nous nous sommes alors posé la question de l'état d'oxygénation de ces nids, sortes de refuges durant la journée. Pour cela, dans le dispositif expérimental d'analyse vidéo, nous avons placé 15 animaux (prélevés en juin) en conditions normoxique (21 kPa, T°C = 15°C) et attendu une semaine afin que la formation du nid soit complète. Les profils d'oxygène à l'intérieur du nid ont été alors mesurés à l'aide d'une micro-électrode polarographique (UNISENSE Microsensors) guidée par micromanipulateur (PRIOR ; pas = 0.2 mm). Les mesures ont été renouvelées à différents endroits du nid afin d'obtenir une image de la distribution de l'oxygène à l'intérieur du nid. Il est important de noter que la microélectrode à oxygène a été fixée sur un support indépendant de la table du dispositif d'analyse vidéo afin de ne pas perturber les animaux (Fig. 53).

Rythme d'activité durant la migration nocturne

D'après la littérature (Horne et al., 2002 ; Cohen, 1982), les *cylindroleberididae*, vivent à proximité du sédiment durant la journée, de plus, cette famille de myodocopes était décrite dans la littérature (Macquart-Moulin, 1999) comme possédant des rythmes circadiens avec une migration nocturne dans la colonne d'eau. Néanmoins, il nous restait donc à démontrer la présence de ce rythme circadien au laboratoire et quantifier l'activité de migration de *Cylindroleberis mariae* dans nos conditions expérimentales. Pour cela, nous avons utilisé un aquarium en verre (10 x 5 x 30 cm, L x l x h) spécialement conçu pour cette observation (Fig. 54). Un total de 50 animaux a été prélevé au début du mois d'août et installé

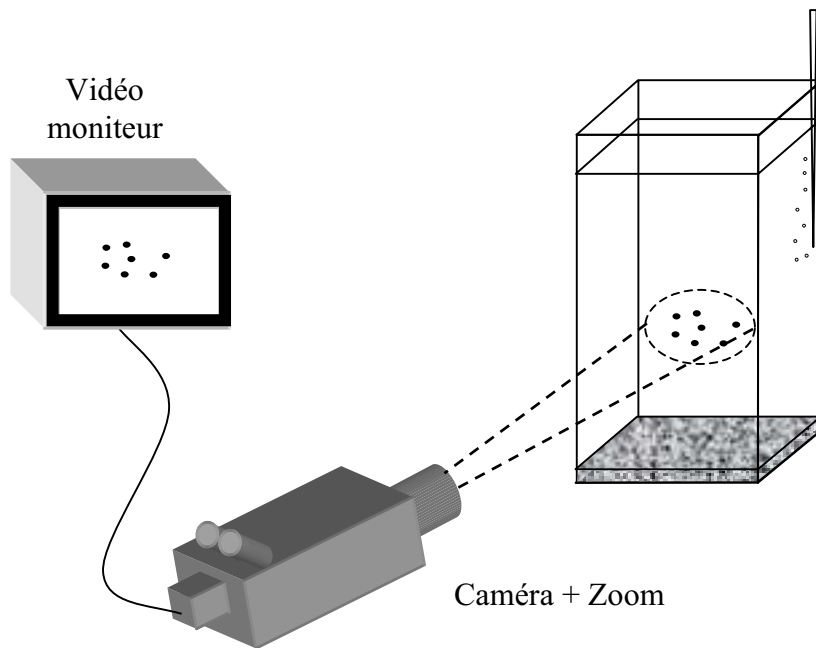


Figure 54: Rythme d'activité durant la migration nocturne du myodocope *Cyindroleberis mariae*. Schéma de principe du dispositif expérimental d'observation de la migration nocturne de *Cyindroleberis mariae*. A noter que la caméra est reliée à un système informatique automatisé permettant l'acquisition d'une image par seconde pendant 24 h.

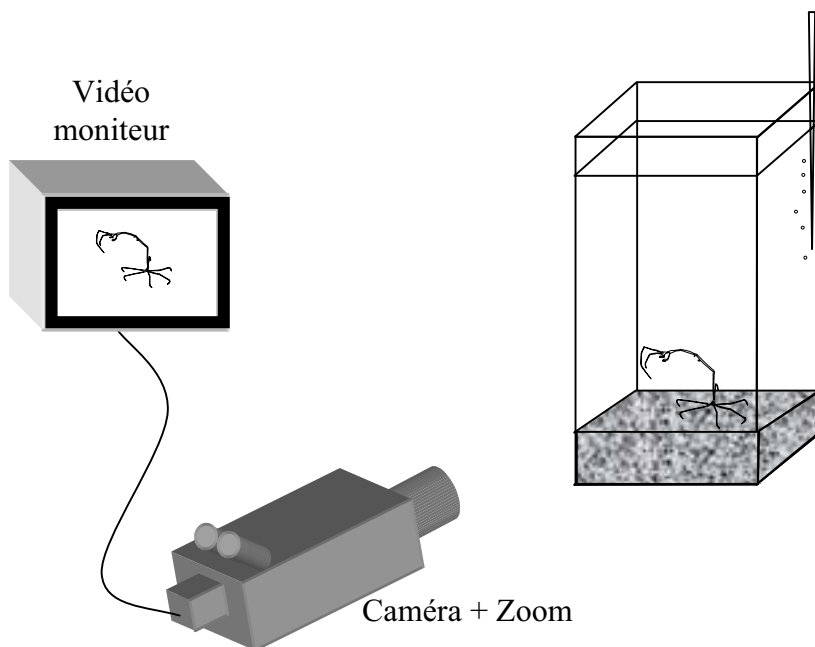


Figure 55: Dispositif expérimental d'observation du mode de vie et du comportement de *Parvipalpus major*

dans l'aquarium avec leur sédiment et phytodétritus (1 cm d'épaisseur). L'aquarium a été placé dans une salle climatisée à 18°C, et, conformément aux données de températures de terrain, soumise aux conditions d'éclairage naturel. Le suivi de l'activité a été mesuré à l'aide d'un dispositif vidéo (caméra N-B, Ikegami CDD Camera, ICD42B ; zoom Computar MLH-10X) guidé par une unité informatique (logiciel PVR Perception player) pour obtenir une image par seconde. Pendant une période de 10 jours, nous avons enregistré l'activité de *C. mariae* par séquences de 24 heures (une image par seconde). L'analyse des séquences a été faite a posteriori (par comptage manuel). Sur chaque image, le nombre d'individus, nageant et présents dans la colonne d'eau au cours des cycles de 24h a été dénombré. L'ensemble des données obtenues a été ensuite regroupé par période de 30 minutes. L'indice d'activité (exprimé en Unité Arbitraire) correspond alors au nombre d'individus présents dans la colonne d'eau (dans le champ de vision de la caméra) par 30 minutes d'observation.

Comportement du caprellidé profond, *Parvipalpus major*

L'ensemble des spécimens de caprellidés a été placé dans des aquariums d'élevage, 1 à 3 jours après avoir été récolté. Ces aquariums (10 x 10 x 20 cm) sont maintenus à température constante de 10°C, dans une chambre climatisée sombre (Fig. 55). Chaque aquarium est renouvelé en eau normoxique (1 L·h⁻¹). Les spécimens de caprellidés ont été maintenus vivants entre 2-3 semaines, sans apport extérieur de nourriture. Les enregistrements de leur comportement ont été effectués à partir d'un montage caméra (SONY Exwave digital color) et zoom (Computar MLH-10X, x 10) manipulé à la main levée à cause des problèmes de profondeur de champs lors des mouvements de l'animal. Un total de 3 heures d'enregistrements a été réalisé, correspondant à la durée minimale d'observation de ces animaux dans le dispositif expérimental.

III - ANALYSE MORPHO - FONCTIONNELLE

Dans le cadre de cette étude, il était important de mieux connaître, voir de clarifier certains aspects de l'anatomie générale des ostracodes et des caprellidés. Un large ensemble d'ostracodes (10 podocopes et 8 myodocopes) a été étudié et plus particulièrement les spécimens appartenant au genre *Krithe* (n = 5) dans le cadre d'une étude approfondie concernant la partie antérieure appelée vestibule (voir chapitre 6). Un total de 5 spécimens de caprellidés profonds, *Parvipalpus major* a été étudié selon le même protocole de fixation que

les ostracodes. Les ostracodes et caprellidés ont été immergés vivants dans un fixateur (glutaraldehyde à 6 % tamponné avec une solution de cacodylate de sodium à $0,4 \text{ mmol.l}^{-1}$, $\text{pH} = 7,4$; osmolarité = $1100 \text{ mosmol. l}^{-1}$) pendant 12 h à 4°C puis rincés dans un tampon cacodylate ($0,4 \text{ mmol.l}^{-1}$, NaCl 4 %). Après déshydratation, les ostracodes étaient inclus dans de l'Araldite afin de pouvoir faire différents types de coupes (transversales, sagittales, longitudinales). Les séries de coupes ont été réalisés à l'aide d'un ultra-microtome automatique (Reichert). Les coupes semi-fines obtenues étaient alors colorées au bleu de méthylène boraté puis analysées au microscope optique (Leica). A noter que les caprellidés ont été fixés d'abord dans le formol avant de subir le protocole ci-dessus.

Chapitre 3

LES PODOCOPES

Chapitre 3
LES PODOCOPES

INTRODUCTION

RESULTATS

* How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans? The example of the podocopid ostracods.

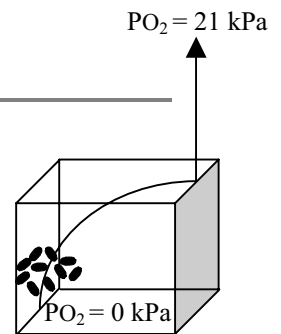
Corbari L, Carbonel P and Massabuau J-C (2004) Journal of Experimental Biology, 207, 4415-4425.

* Des crustacés qui ne manquent pas d'air.

Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J-C (2004) Pour la science, 320.

CONCLUSIONS

INTRODUCTION



Comme nous l'avons rappelé dans le chapitre 1, chez des crustacés décapodes, des poissons et des mollusques, l'état d'oxygénation du sang est réglé à des valeurs faibles de l'ordre de 1-3 kPa tout comme dans nos cellules et tissus. Cette stratégie du maintien du milieu intérieur à de faibles niveaux d'oxygénation a été intégrée dans une perspective évolutive et l'idée est qu'au cours de l'évolution, les premières cellules se seraient développées dans de faibles conditions d'oxygénation. L'hypothèse est, qu'en parallèle à l'augmentation de l'oxygène sur terre, tout en se complexifiant les organismes auraient maintenu cet état d'oxygénation cellulaire primitif.

C'est dans cette optique que notre intérêt s'est porté sur les ostracodes en tant que crustacés primitifs. En effet, de part leur présence sur terre ainsi que la stabilité morphologique du groupe depuis le Cambrien (environ 500 MA), les ostracodes se présentaient donc comme des organismes clés, laissant une fenêtre ouverte sur les origines de la mise en place des mécanismes de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur. Nous nous sommes donc tout d'abord intéressés au plus ancien groupe d'ostracodes mais aussi le plus simple en terme d'équipements respiratoires : les Podocopes qui ne possèdent ni appareil circulatoire, ni branchie. Nous avons fait l'hypothèse que ces animaux pouvaient n'avoir que peu ou pas évolué physiologiquement et nous avons tenté d'apprendre comment l'état d'oxygénation cellulaire pouvait être réglé, il y a 400-500 MA. N'ayant que peu d'information sur le fonctionnement de ces crustacés, nous avons abordé cette étude dans une optique "éthologique" en adaptant notre mode d'analyse à leur mode de vie et leur comportement.

Dans ce chapitre, nous montrons que les ostracodes podocopes sont incapables d'ajuster leur activité ventilatoire pour faire face à des changements d'oxygénation de l'eau. Par contre, placés dans un préférendum d'oxygénation (créé dans leur sédiment naturel), ils se positionnent dans une zone peu oxygénée pour régler l'état de leur oxygénation cellulaire dans une gamme de PO₂ basse, analogue à celle observée chez les crustacés décapodes, poissons et mollusques.

How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans?

The example of the podocopid ostracods

by

Laure Corbari, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau

(2004) *Journal of Experimental Biology* **207**, 4415-4425

Experimental Biology



Ostracods are minute crustaceans living in habitats ranging from deep-sea to high mountain lakes. They are true living fossils that have existed on earth for at least 500 million years. They regulate their tissue oxygenation levels behaviourally by migrating to sediments where the oxygen levels are slightly higher than those required by their tissues (see article by Corbari, Carbonel and Massabuau, pp. 4415-4425). *Cy lindroleberis mariae* photographed by L. Corbari and J.-C. Massabuau.



Picture by Ralph Pirow

They reared one population of the transparent minicrustaceans at normal oxygen levels and a second population in low oxygen conditions. The low-oxygen-population went from transparent to a bright red colour as the animals pumped up production of haemoglobin. While the low-oxygen-adapted population became haemoglobin-rich, the population reared in normal oxygen conditions remained haemoglobin-poor. The team was now ready to visualise oxygen levels inside animals from the two populations. They injected an oxygen-sensitive phosphorescence probe (which emits more light as oxygen levels decrease) into the crustaceans' circulatory system. The light intensity images provided by the probe allowed the team to see two-dimensional oxygen profiles in *Daphnia*'s haemolymph circulation.

Examining a cross-section through the middle of the animal's body under a microscope, Pirow saw steep oxygen gradients in haemoglobin-poor *Daphnia* but fairly flat oxygen gradients in haemoglobin-rich animals. He explains that the steep slopes of the oxygen gradients in the bodies of the haemoglobin-poor animals indicate diffusion-based oxygen transport, as 'you can imagine the oxygen rolling down the slopes from regions of high oxygen to regions with less oxygen'. The presence of haemoglobin, acting as a buffer that stabilizes the release of oxygen from the haemolymph to body tissues, restricts the haemolymph oxygen concentration to a narrow range, smoothing out the oxygen gradients in the body. The gentle oxygen gradients in the haemoglobin-rich *Daphnia* indicate that, as haemoglobin levels increase, the animals switch from a diffusion-dominated to a convection-dominated oxygen transport system. 'Oxygen can be transported at much flatter internal oxygen gradients by convection than by diffusion' says Pirow, 'so animals with high haemoglobin levels have the advantage that they can cope much better with oxygen-deficient habitats'.

If having lots of haemoglobin is so useful,

why aren't all *Daphnia* bright red? Many aquatic animals, like *Daphnia*, are transparent in a bid to escape unwanted attention from predators. Having high levels of haemoglobin may help the creatures survive in low oxygen habitats, but turning bright red also makes them much easier to spot by a hungry fish. To avoid becoming lunch, *Daphnia* may have to pay the price of struggling for air in oxygen-starved water.

10.1242/jeb.01365

Pirow, R., Bäumer, C. and Paul, R. J. (2004). Crater landscape: two-dimensional oxygen gradients in the circulatory system of the microcrustacean *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* **207**, 4393-4405.

OSTRACODS' OXYGEN PUZZLE

According to palaeontological records, two billion years ago atmospheric oxygen levels were a tenth of the levels they are today. Prehistoric water-breathing crustaceans presumably adapted to these low levels, but when oxygen levels rocketed, some creatures took advantage of the metabolic advantages offered and allowed their blood oxygen levels to rise. However, crustaceans seem to have stuck to their old-fashioned low-oxygen habits; they have remarkably low blood oxygenation levels even to this day. Oddly enough, despite the large evolutionary gap between crustaceans and warm-blooded animals, modern mammalian brains share the low oxygenation levels of crab and crayfish circulation. Jean-Charles Massabuau and Laure Corbari at Bordeaux University wondered if this striking similarity was evidence that the crustaceans' prehistoric oxygen regulation strategy was preserved over evolutionary time (p. 4415).

Massabuau reasoned that if he could show how primitive water-breathers were able to regulate their tissue oxygenation levels in prehistoric times, this would reveal an early adaptation strategy that could have maintained low tissue oxygenation levels in animals throughout the course of evolution. Massabuau needed a primitive animal, so when Pierre Carbonel told him about tiny creatures called ostracods that hadn't changed much in the past 500 million years, Massabuau realised he had found an 'open window into the past' to study ancient oxygen regulation strategies.

The team decided to focus on the ostracods' breathing apparatus. Ostracods are minute crustaceans, complete with little appendages that beat rhythmically to waft water into the animal's breathing cavity, where gas exchange occurs by diffusion.

Wondering whether the diminutive creatures were able to adjust their breathing rate at different oxygen levels, the team designed miniature aquaria, allowing them to change the oxygenation levels in the mini-habitats. The team videotaped the crustaceans to see whether the animals would beat their breathing appendages faster as oxygen levels dropped. The team were surprised when they saw that the ostracods didn't change the beating frequency of their breathing apparatus at different oxygen levels. Clearly, the ostracods couldn't regulate their ventilation in response to changes in water oxygenation. So how had the animals coped for millions of years?

The team suspected that ostracods might regulate their oxygen by choosing to live at particular oxygen levels. To test this, they needed to study the distribution of the little sediment-dwellers in their natural habitat. They didn't have to travel far to collect sediment core samples: the Bay of Arcachon in France, where ostracods live, is right outside their lab. The researchers then determined the ostracods' preferred oxygen levels by measuring the oxygen profile of each sediment sample, freezing and slicing up the samples and counting the number of animals in each slice. The team found that the crustaceans were escaping both oxygen-rich and oxygen-depleted regions and migrating to sediments where the oxygen levels were slightly higher than those required by their tissues. The ostracods were regulating their body oxygenation simply by crawling to their comfort zone.

So 500 million years ago, these tiny crustaceans were already managing their tissue oxygenation levels using a behavioural rather than a physiological strategy, which could have been conserved over evolutionary time. But what is the evolutionary advantage to maintaining such low body tissue oxygenation? 'One explanation is that metabolism produces oxygen free radicals, which damage cells', says Massabuau, 'so maintaining low oxygen levels may protect an animal's tissues from free radical attack'. It seems ostracods may have a very good reason for being stuck in the past.

10.1242/jeb.01363

Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C. (2004). How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans: the example of the podocopid ostracods. *J. Exp. Biol.* **207**, 4415-4425.

How a low tissue O_2 strategy could be conserved in early crustaceans: the example of the podocopid ostracods

Laure Corbari, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau*

Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie, des Systèmes Aquatiques, UMR 5805, Université Bordeaux 1 and CNRS, Place du Dr B. Peyneau, 33120 Arcachon, France

*Author for correspondence (e-mail: jc.massabuau@epoc.u-bordeaux1.fr)

Accepted 17 September 2004

Summary

An adaptation strategy whereby O_2 partial pressure, P_{O_2} , in the tissues is maintained within a low, narrow range of 1–3 kPa, largely independent of the inspired P_{O_2} , has been reported in water- and air-breathing poikilotherms and in homeotherms. Based on the postulate that this basic cellular mechanism has been established since the early stages of evolution, it has been hypothesized that it could be the consequence of an early adaptation strategy to maintain cellular oxygenation within the same low and primitive range. To test this hypothesis we studied the basic mechanisms of oxygen regulation in podocopid ostracods, minute crustaceans that have existed on earth for at least 500 million years. Podocopids lack any regulatory mechanism for adapting their ventilation to cope with changes in water

oxygenation, and instead adjust their tissue oxygenation status by migrating through the O_2 gradient to sediment layers where the P_{O_2} of the water is 3–5 kPa. Experimental manipulation of the O_2 profile induced their vertical migration to follow this precise water P_{O_2} and demonstrates the existence of a regulation strategy. This strategy must be associated with the lower P_{O_2} values within the animal's carapace valves, showing that podocopids can actively regulate their tissue P_{O_2} at constant but even lower values than the water. In conclusion, the low tissue P_{O_2} strategy could have existed in early crustaceans and, by extension, in early animals.

Key words: respiration, evolution, crustacea, control of breathing, oxygen regulation, hypoxia.

Introduction

The first eukaryotic cells are thought to have been in existence on our planet for about 2 billion years (Han and Runnegar, 1992) and current evidence suggests that animal life started to evolve in a low oxygen environment. Indeed, the Proterozoic period was characterized by a low O_2 partial pressure (P_{O_2}) in the atmosphere (0.2–3 kPa), which was much lower than the normoxic P_{O_2} of 21 kPa presently found at sea level (Holland, 1994; Berner and Canfield, 1996; Canfield, 1998; Bekker et al., 2004).

There was an explosion of life in the lower Cambrian and, based on both the crustacean fossil record (Vannier and Abe, 1995; Waloszek, 1999; Shu et al., 1999; Siveter et al., 2001; Horne et al., 2002) and molecular phylogeny (Yamaguchi and Endo, 2003), the different species of the Ostracoda, one of the largest groups of crustaceans, appears to have been established since that time. If one compares present and early fauna, very few such primitive animals are still present and so ostracods emerge as an outstanding group covering at least 500 million years of aquatic life. Their carapace fossils are proven values for interpreting the geological age, depth, salinity and other paleoecological parameters of sedimentary rocks.

Remarkably, in water-breathing animals, there is a strategy of gas-exchange regulation that consists of maintaining P_{O_2} in

the arterial blood within an astonishingly low and narrow range (1–3 kPa, i.e. about 5–10 times lower than in homeotherms; Massabuau, 2001). In mammalian tissues, including the brain, the most frequently measured P_{O_2} is also at 1–3 kPa (Vanderkooi et al., 1991). Based on the postulate that basic cellular mechanisms have been established since the early stages of evolution, it has been suggested that this similarity in oxygenation status could be the consequence of an early adaptation strategy, which subsequently, throughout the course of evolution, maintained cellular oxygenation in the same low and primitive range, independent of environmental changes (Massabuau, 2001, 2003). The low arterial oxygenation strategy observed in water-breathers could thus be a link in a chain stretching back as far as the Proterozoic ages. The whole story, including the elaboration of sophisticated gas exchange systems that work in either water or air (and the use of respiratory pigments) – plus adaptations to increasing animal sizes, complexity and metabolic levels in earth's changing atmosphere – may represent a remarkable example of homeostasis operating over a vast time scale.

In the present paper we have used podocopid ostracods to test this hypothesis by gaining more insight into the O_2 -supply control mechanisms in early crustaceans. Podocopid ostracods

are minute crustaceans (0.3–3 mm) with a laterally compressed body within a calcified bivalved carapace that encloses a domiciliary cavity. They inhabit diverse benthic environments both in fresh- and seawater ecosystems. The podocopids are the most diverse and widespread ostracods today. It is important to note that they lack gills and heart, which suggests a clearly primitive morphofunctional structure. Interestingly, however, they all possess a pair of ventilatory appendages, physiologically analogous to the scaphognathites present in present Crustacea (Hughes et al., 1969). These appendages beat rhythmically and bring water currents into the domiciliary cavity where gas exchanges (O_2 – CO_2) occur.

Materials and methods

Experiments were performed all the year round on a total of 347 ostracods (body size ranging from 300 to 700 μm) belonging to six genera. Three species (*Leptocythere castanea*, $N=180$; *Cyprideis torosa*, $N=125$; *Loxoconcha elliptica*, $N=14$) were collected locally in the Bay of Arcachon, SW France, by hand-sampling sediment cores at low tide on muddy sand sediments. Two species (*Cytheropteron alatum*, $N=10$; *Argilloecia conoidea*, $N=2$) were sampled in muddy sediment from the Bay of Biscay during the Oxybent program cruises (1998–2000) at depths ranging from 300–800 m using a suprabenthic sledge (Macer-Giroq sledge; Dauvin et al., 1995). Three main types of analysis were performed on a mixed population of ostracod species: (1) ventilatory responses to various water oxygenation levels, (2) behavioural positioning in an oxygen gradient, and (3) morphofunctional anatomy to determine maximum O_2 diffusion distances.

Animals were acclimated in the laboratory for at least 1 month before experiments began (Massabuau, 2001) and then remained in the experimental set-ups for 3–8 weeks. As no significant mortality or statistical difference was observed as a function of experimental duration, all the data are presented together. Note that this illustrates the stability of our procedure and observations in our experimental conditions. Altogether, a total of about 750 h of observation was performed. For reference, 1 kPa=7.5 Torr or mmHg. In seawater (salinity=30‰) equilibrated with air, the partial pressure is 21 kPa, and the oxygen concentration is 9.33 mg l^{-1} (280 $\mu\text{mol l}^{-1}$) at 10°C and 7.90 mg l^{-1} (242 $\mu\text{mol l}^{-1}$) at 18°C.

Maintenance conditions

The animals, together with their natural sediment, were placed in open-flow PVC tanks (40 cm×15 cm×15 cm) in a dark room thermostated at 10 or 18°C. They were all supplied with seawater from the Bay of Arcachon (water $P_{O_2}\approx 20$ –21 kPa; water pH ≈ 7.8 ; salinity ≈ 30 ‰). Given the animal size and the amount of organic material and microfauna naturally present in the sediment, no external food was added. When required, specimens were isolated under a binocular microscope before experiments. To minimise external disturbances, the experimental tanks were isolated from laboratory vibrations on anti-vibrating benches.

Ventilatory analysis by video recording

The experiments consisted of studying ostracod ventilatory activity when exposed to various steady water P_{O_2} conditions at 10°C, by visual inspection after or during video recording (Figs 1 and 2). All video observations were carried out under dim light using infrared light ($\lambda=880$ nm) to limit any disturbance to the animals. Recordings were made using an X–Y driven Leitz MZ12 binocular microscope (Oberkochen, Germany) equipped with a B/W Ikegami camera (CDD Camera, ICD42B; Maywood, USA). Data were displayed on a Sony TV monitor (HR Trinitron PVM 1453MD; Tokyo, Japan). They could be either analysed on-line and/or stored on a JVC tape recorder (S-VHS, HRS75000MS; Tokyo, Japan) or a Panasonic tape recorder (VHS, NV/SD45; Osaka, Japan). As the animals were only motionless on exceptional occasions, no attempt was made to use any automatic frequency counting device.

Experimental procedure

Analyses were performed on groups of mixed species originating either from the Bays of Arcachon or Biscay. One week before the experiment started, a group of 7–15 ostracods were transferred to a wedge-shaped micro-aquarium (Fig. 1; volume 500 μl ; 2 cm×2 cm, thickness, 0–3 mm; water renewal rate 10–20 $\mu\text{l min}^{-1}$). This was hand-made using a microscopic slide fixed using SYLGARD (Down Corning; Michigan, USA) on a thermostated glass plate (10 cm×6 cm×0.5 cm). It was provided with *in situ* muddy sand and vegetal remains to mimic a ‘natural-like’ environment, in which the animal could move freely, dig and hide between sand particles. This aquarium was part of a 1 l closed recirculatory system with constant entry and exit levels, set at $10\pm 0.1^\circ\text{C}$ for all experiments using a

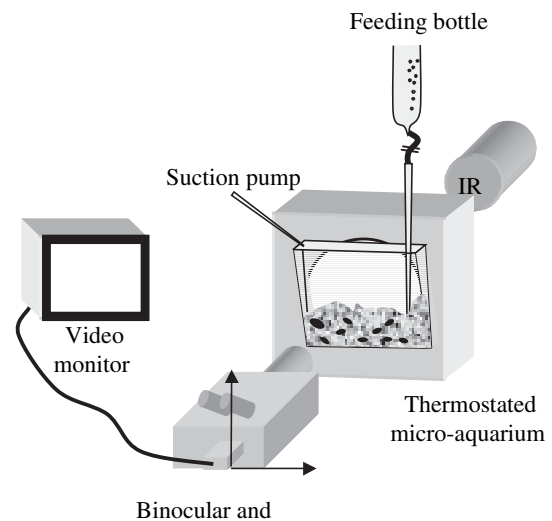


Fig. 1. Experimental set-up for ventilatory analysis by video recording. Animals were free ranging in a vertical layer of natural sediment and ventilatory activity was measured by visual inspection through the animals. Analysis was performed under dim light by means of infra-red (IR) camera and micro-spotlight (see text for details).

laboratory-constructed thermoelectric device. During the experiments P_{O_2} varied from 2–21 kPa (27–282 $\mu\text{mol l}^{-1}$). The partial pressure of CO₂ (P_{CO_2}) was maintained at 0.1 kPa, a value typical of water P_{CO_2} in air-equilibrated environments. The gas mixtures were bubbled through the reservoir of seawater feeding bottles. The N₂/O₂/CO₂ gas mixture was obtained *via* mass flow controllers (Tylan General, model FC-260; San Diego, USA) driven by a laboratory-constructed programmable control unit.

Two sub-types of experiments were performed in this set-up: (1) analysis of reference ventilatory pattern in normoxia and response to 3-day exposure periods at 3 kPa, and (2) ventilatory responses to 2 h exposure periods by decreasing the range from 21 to 2 kPa.

Long-term exposure at water $P_{O_2}=21$ and 3 kPa

Analysis of the reference ventilatory pattern to long-term exposure in normoxia (21 kPa, 282 $\mu\text{mol l}^{-1}$) and 3 days in hypoxia (3 kPa, 40 $\mu\text{mol l}^{-1}$) was performed from April to June on two podocopid species from the Bay of Arcachon and two species from the Bay of Biscay. Animals were first studied for 3 days in reference normoxic conditions (21 kPa), where the animals had adapted to the set-up for 1 week, then in hypoxia for 3 days ($P_{O_2}=3$ kPa, hypoxic test) and finally in normoxia after 3 days of recovery (recovery). When the analysis started (day 1), the experiment consisted of focussing on individuals (recognizable by their species, location in the aquarium, size and shell marks) and studying them for 1 h periods in normoxia, hypoxia and, finally, normoxia. Thus, a total of 3 h (3×1 h) of analysis was performed on each individual studied. Their ventilatory pattern was described during reference days 1, 2 or 3, test days 4, 5 or 6 and recovery days 7, 8 or 9. For each animal, the time spent actively ventilating during the studied hour (min h^{-1}), the mean ventilatory burst duration (min), the burst number (h^{-1}) and the mean ventilatory frequency within bursts (min^{-1}) were determined. There were no statistically significant differences as a function of time at each water P_{O_2} level, so all data were pooled. Comparisons

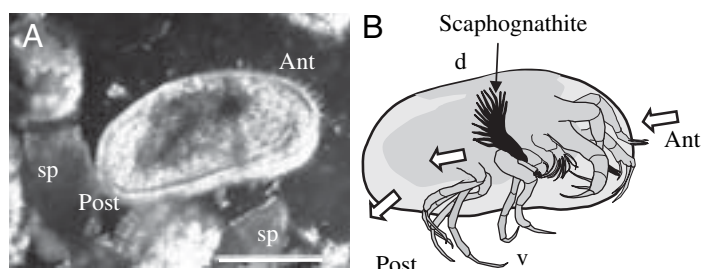


Fig. 2. Morphofunctional anatomy of *Cyprideis* sp., a typical podocopid ostracod from the Bay of Arcachon. (A) *In situ* picture in the experimental micro-aquarium. Note the size of the animal in comparison to the sand particles (sp). (B) Schematic drawing (right valve not shown) illustrating the ventilatory flow pattern (white arrows) through the animal. The inspired water enters from the anterior aspect and superfuses the soft body. Ant, anterior; post, posterior; d, dorsal; v, ventral; scaphognathites, ventilatory plates. Scale bar, 250 μm .

were performed using a paired *t*-test, as an individual was its own reference.

Resistance to 24 h-anoxia

To obtain some insight into the potential ability of podocopids to survive anoxic exposure, a group of ten specimens from the Bay of Arcachon (*Leptocythere* and *Cyprideis*) were exposed to $P_{O_2}=0$ kPa and $P_{CO_2}=0.1$ kPa during a 24 h exposure period. After recovery at $P_{O_2}=21$ kPa, ventilatory activity and behaviour were studied during the following 72 h period.

Short-term exposure at various oxygenation levels

These experiments were done on three species from the Bay of Arcachon and two from the Bay of Biscay. Each group was exposed to seven plateau levels of different water P_{O_2} presented in the following order (21, 10, 6, 4, 3, 2 and 21 kPa). The duration of exposure was 2 h per oxygen level, and ventilatory frequencies within ventilatory bursts (min^{-1}) were measured during the last 30 min of exposure. Again, each specimen was identified. Under each experimental condition, measurements were performed twice per individual and both determinations were pooled.

Behavioural regulation of organism oxygenation status

This experiment, performed in August, consisted of studying the ostracod positioning into natural and experimentally manipulated O₂ gradients at 18°C. Thirty five cores of muddy sandy sediment (sediment depth, 15 cm; water column, 5 cm; $N=35$) were hand-collected with glass tubes (diameter 5 cm, length 20 cm) in the Bay of Arcachon at Malprat Island (day 0; Carbonel, 1978, 1980). In an attempt to minimize heterogeneity between cores, the size of the sampled area was 1 m². They were transferred within 1–1.5 h to a laboratory thermostated at 18°C and placed in experimental tanks fed with running seawater (water $P_{O_2}\approx 21$ kPa, water pH ≈ 7.8 , salinity=30‰). Great care was taken not to disturb the sediment at the interface. Five cores were randomly chosen 1–2 h later to determine reference normoxic O₂ profiles and ostracod location. Following O₂-profile determination, the cores were immediately frozen in liquid N₂ to fix the ostracod positions in the sediment. They were kept at –20°C prior to analysis. One day after field sampling (day 1), 15 cores were exposed to hyperoxia (water column $P_{O_2}=40$ kPa) to manipulate the anoxic zone. The remaining 15 cores were kept in parallel under normoxic conditions. O₂ profiles and ostracod location were determined on five normoxic and five hyperoxic cores at days 4, 7 and 11.

Oxygen profile determinations

O₂ profiles were measured with O₂ polarographic microelectrodes (UNISENSE Microsensors; Aarhus, Denmark) driven by a PRIOR micromanipulator (Cambridge, UK; steps, 0.2 mm). The microelectrode was advanced through the central region of the core, recording the O₂ changes with depth. Preliminary experiments, during

which five profiles were measured per core (1 central, 4 peripheral), demonstrated that in our experimental conditions a single central measurement was representative of the entire vertical O_2 -distribution, except when a burrow was present. Following this preliminary observation, two cores were eliminated from the full analytical process during the experimental run, as a burrow was detected. Thus, the total number of analyzed cores for ostracod positioning was 33 instead of 35.

Ostracod position in the oxygen gradients

The analysis was performed on melting cores. Each core was sliced (thickness, 400 μm) using razor blades and a precision micromanipulator. The slices were obtained from +1 cm above the sediment–water interface to –1 cm. Ostracod number (4–10 per core) and species analysis were determined for each slice after animal sorting under binocular.

Oxygen diffusion distances

The study was performed on a total of five *Argilloecia* and five *Cyprideis*. Whole animals were immersed in a fixative for electron microscopy (6% glutaraldehyde buffered with 0.4 mol l^{-1} sodium cacodylate, pH 7.4, osmotic pressure 1100 mOsmol l^{-1}) for 12 h at 4°C and subsequently rinsed in cacodylate buffer (0.4 mol l^{-1} , NaCl 4%). They were then embedded separately in Araldite. Serial sections were cut using a Reichert (Depew, NY, USA) automatic ultra-microtome. Ultra-thin sections were taken from randomly distributed areas of the Araldite block. Maximum diffusion distances were measured on enlarged pictures (semi-thin preparations) after visual inspection using a Leica TCS 4D microscope (Solms, Germany).

Statistical analysis

Values are reported as mean values ± 1 standard error (S.E.M.)

or 1 standard deviation (S.D.). Differences were evaluated using a Mann–Whitney *U*-test, a two-tailed Student's *t*-test, a Fisher test and/or analysis of variance (ANOVA). $P < 0.05$ was taken as the fiducial limit of significance.

Results

Throughout all the experiments, animals were systematically observed at the bottom of the aquarium, crowding between sand particles and organic remains (Fig. 2A). They were only exceptionally present at the water–sediment interface and their swimming velocity ranged from 1–2 mm min^{-1} . Water currents were drawn into the domiciliary of the animals by the rhythmic action of both scaphognathites (Fig. 2B), as could be seen by particle displacements, which passed over the soft body surface and were then forced backwards. Interestingly, the ventilatory movements were very similar to what is observed in green crabs *Carcinus maenas* (Hughes et al., 1969) or crayfish *Astacus leptodactylus* (Massabuau, 1983), for example. Although never strictly identical, these movements were always very similar on both sides. No reversals of flow direction, or any pause by a single scaphognathite were ever observed. However, ventilatory activity was not continuous. Indeed, a typical pattern was characterized by a spontaneous switch from active beating to pauses or apnoea. Fig. 3 is an illustration of this variability for *Cyprideis torosa*, which can be taken as representative of all studied species, independent of the original biotope (deep sea or shallow water) and period studied. This variability was considerable, both within and between animals (Fig. 3A,B). Fig. 3C,D and Table 1 illustrate this as a function of time and water P_{O_2} (21 and 3 kPa, respectively), in a group of 10 *Cyprideis*. During the 3-day period of analysis (Fig. 3C,D), the total burst duration per hour (min h^{-1} ; Fig. 3C) and the number of bursts per hour (h^{-1} ;

Table 1. Characterisation of ventilatory pattern in four species of podocopids during 3-day exposure periods in water of $P_{O_2}=21$ and 3 kPa

Genus	<i>N</i>	$P_{O_2}=21$ kPa					$P_{O_2}=3$ kPa				
		Burst					Burst				
		Number (h^{-1})	Mean duration (min h^{-1})	Total duration (min h^{-1})	<i>f</i> _R (min^{-1})	Apnea %	Number (h^{-1})	Mean duration (min h^{-1})	Total duration (min h^{-1})	<i>f</i> _R (min^{-1})	Apnea %
<i>Cyprideis</i>	10	18 \pm 6	3 \pm 2	24 \pm 8	53 \pm 7	40	22 \pm 9	5 \pm 4	19 \pm 6	58 \pm 4	50
<i>Leptocythere</i>	10	11 \pm 5	14 \pm 8	38 \pm 8	84 \pm 12	30	11 \pm 4	4 \pm 2	33 \pm 11	53 \pm 4	60
<i>Cytheropteron</i>	5	4 \pm 2	31 \pm 17	42 \pm 14	52 \pm 3	20	3 \pm 2	22 \pm 18	38 \pm 18	53 \pm 4	40
<i>Argilloecia</i>	2	7 \pm 6	31 \pm 28	38 \pm 21	63 \pm 11	0	1 \pm 0	60 \pm 0	60 \pm 0	77 \pm 1	0

Cyprideis and *Leptocythere* were from the Bay of Arcachon; *Cytheropteron* and *Argilloecia* from the Bay of Biscay.

Water temperature = 10°C.

Number, number of ventilatory burst per hour; mean duration, mean burst duration per hour; total duration, total duration of active ventilation per hour; *f*_R, respiratory frequency within bursts.

All values are means ± 1 S.E.M.

Apnea, percentage of animals presenting a total absence of ventilatory activity during the 1 h period studied.

*Significantly different from reference values at 21 kPa; *N* = number of animals studied. Mean values do not include apnoeic animals.

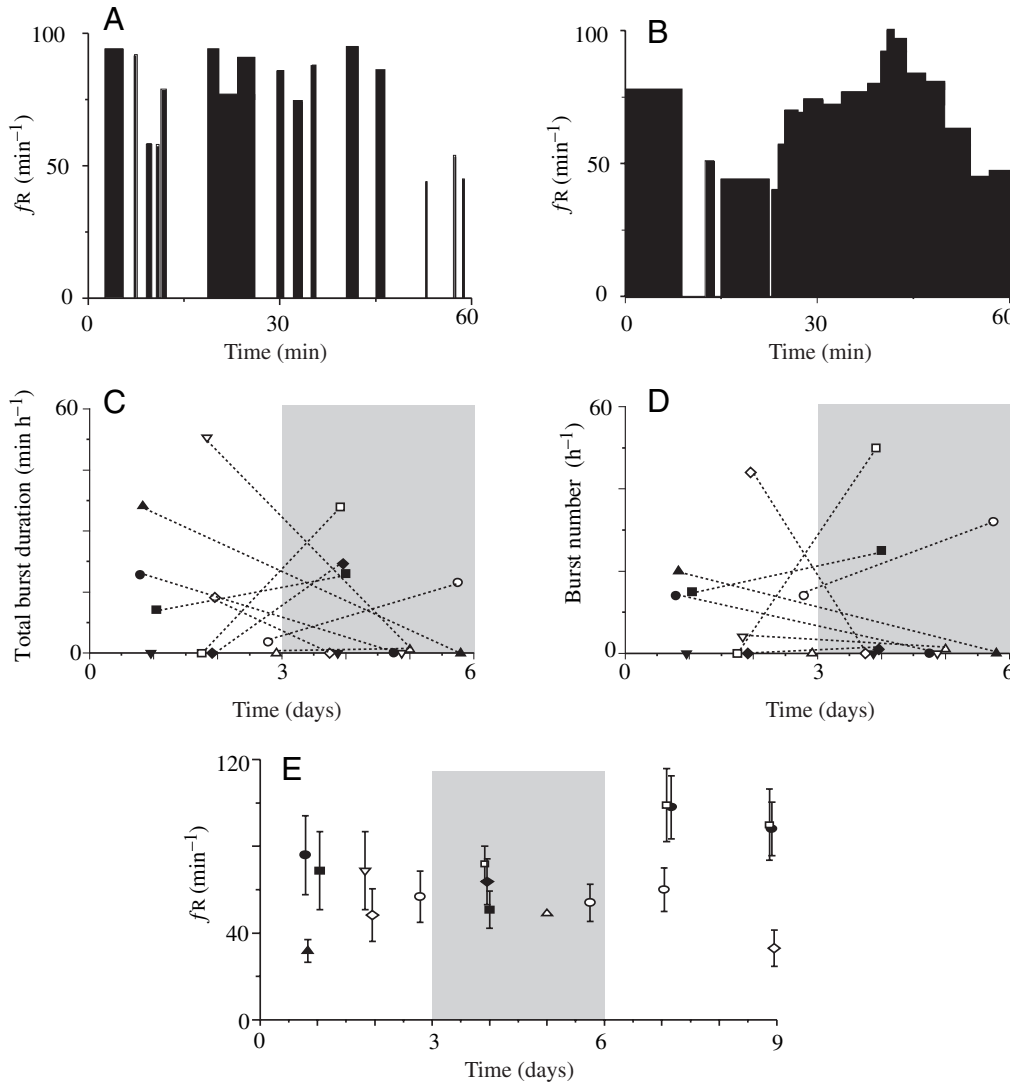


Fig. 3. Ventilatory response of *Cyprideis torosa* to consecutive 3-day exposure periods at reference water $P_{O_2}=21$ kPa, hypoxia, $P_{O_2}=3$ kPa, and recovery $P_{O_2}=21$ kPa. See text for details. (A,B) Typical ventilatory pattern (f_R , ventilatory frequency) in two specimens of *Cyprideis* during 1 h observation periods at $P_{O_2}=21$ kPa. Both activities are contrasted and characterized by alternations of ventilatory bursts and pauses. (C–E) Ventilatory activity per hour (C; min h^{-1}), burst number per hour (D; h^{-1}), mean ventilatory frequency within burst per minute (E; f_R , min^{-1}) at $P_{O_2}=21$ and 3 kPa (grey-shaded). Each data point (mean \pm 1 S.D.) was obtained from a single podocopids, randomly chosen and analysed during the 1 h period. The ventilatory frequency within burst was also analysed during a 3-day recovery period (days 7 and 9) at $P_{O_2}=21$ kPa (E). One symbol per individual, $N=10$ animals. No significant change was observed as a function of water P_{O_2} and time.

Fig. 3D) were studied for each animal. Clearly, both parameters were highly variable at each P_{O_2} (total burst duration= 14.3 ± 6.1 min h^{-1} at 21 kPa and 9.5 ± 4.1 min h^{-1} at 3 kPa, paired t -tests, $t=0.47$, d.f.=20, $P=0.64$; burst number= 11.1 ± 4.4 h^{-1} at 21 kPa and 10.9 ± 5.7 h^{-1} at 3 kPa, paired t -tests, $t=-0.13$, d.f.=20, $P=0.89$; means \pm S.E.M., $N=10$; no different values; zero data included to take into account apnoeic animals). For further insight into this first set of observations, we then analysed the respiratory frequency, f_R , within bursts before, during and after exposure at 3 kPa (Fig. 3E). Clearly, f_R did not significantly change as a function of time and P_{O_2} ($f_R=53.1\pm 7.1$ min^{-1} at 21 kPa during the reference period (ref), 57.9 ± 4.3 min^{-1} during the test period at $P_{O_2}=3$ kPa, and 78.0 ± 10.7 min^{-1} following recovery (rec) at $P_{O_2}=21$ kPa; means \pm S.E.M., no different values, paired t -tests: ref 21 kPa vs 3 kPa, $t=-0.54$, d.f.=10, $P=0.59$; 3 kPa vs rec 21 kPa, $t=-1.6$, d.f.=10, $P=0.14$; ref 21 kPa vs rec 21 kPa, $t=1.9$, d.f.=10, $P=0.08$). Specifically, no significant hypo- or hyperventilations were observed. Table 1 shows that this ventilatory pattern and absence of ventilatory response to hypoxia was not only typical of *Cyprideis* but appeared as a

general observation in most studied podocopid genus. Finally, it must be added that all animals survived the 3-day hypoxic exposure, without any sign of behavioural and/or physiological change. However, no individual survived a 24 h anoxic exposure in our experimental conditions.

In a next step towards determining the existence or absence of ventilatory adaptation mechanisms to face water P_{O_2} changes, we then examined the effects of exposure in 2 h stages in the same five species (plus *Loxoconcha elliptica*, an extra genus from the Bay of Arcachon). These observations are presented in Table 2. When the hypoxic values are compared to the normoxic reference and recovery status, no hyperventilation could be detected in response to hypoxia. The relationship between f_R and water P_{O_2} was: $f_R=0.6(\text{water } P_{O_2})+72.9$ ($r^2=0.49$, $P<0.079$). Note in addition that the percentage of apnoeic animals remains independent of water P_{O_2} in the range 21–2 kPa [number of apnoeic animals= $0.09(\text{water } P_{O_2})+46.2$; $r^2=0.015$, $P<0.79$]. Fig. 4A,B, presents all pooled data to illustrate this absence of ventilatory adaptation ability.

What could be then the adaptative solution, if any,

Table 2. Respiratory frequency within bursts in podocopids exposed to various oxygenation levels and percentage of apneic animals

Genus	N	P_{O_2} (kPa)														r^2	
		21 (Ref.)		10		6		4		3		2		21 (Rec.)			
		fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)	fR (min ⁻¹)	Apn. (%)
<i>Leptocythere</i>	19–48	91±6	40	84±5	52	85±8	59	87±8	52	85±12	37	102±9	52	93±8	47	0.01	0.10
<i>Cyprideis</i>	18–30	107±9	61	79±11	64	73±22	84	103±14	71	62±4*	60	71±18	56	86±5	72	0.30	0.00
<i>Loxococoncha</i>	6–14	74±11	29	73±13	46	74±17	54	86±11	43	46±18	0	41±15	0	90±18	50	0.35	0.18
<i>Cytheropteron</i>	5	62±6	20	63±12	40	50±2	40	51±13	20	41±11	20	53±4	0	61±5	60	0.59	0.32
<i>Argilloecia</i>	2	60±20	0	71±44	0	46±17	0	45±10	0	62±3	0	42±2	33	34±15	33	0.00	–

Water temperature = 10°C.

Apn., percentage of animals presenting a total absence of ventilatory activity during the studied period; Ref., respiratory characteristics during reference period; Rec., respiratory characteristics during recovery period.

All values are means ± 1 S.E.M.

*Significantly different from reference value at water P_{O_2} = 21 kPa. N = number of animal; r^2 = correlation coefficient.

developed by these animals? Are they using an alternative strategy to maintain their cellular oxygenation status, or are they exhibiting a total absence of tissue P_{O_2} regulation? They naturally inhabit oxygen gradients in the upper layers of the sediment, so we studied their positioning in naturally occurring and experimentally manipulated O_2 gradients. In addition, experiments were performed at 18°C to stimulate the animals' O_2 requirements and O_2 dependency. Fig. 5 presents the results of these experiments performed in natural cores from the Bay of Arcachon. As O_2 penetration varied between cores, and was independent of exposure time, all data were grouped by core O_2 -profile characteristics (redox fronts were in the range 2–3, 3–4, 4–5, 5–6 and 7–8 mm, indicated by dotted lines in Fig. 5). Two types of podocopid species were found in the cores, *Leptocythere castanea* (N=120) and *Cyprideis torosa* (N=82). Interestingly, 2 h after field sampling, most animals were naturally found in the 3–5 kPa layer at 1–2 mm below the surface. They then stayed there during the 10-day experimental period in all cores supplied with normoxic water, independent of the acclimatory adaptation period to laboratory conditions. In cores where the O_2 profile had been experimentally manipulated, the distribution also remained clearly linked to the same low oxygenation layers, and this was independent of depth and sampling time ranging from 4–11 days. Fig. 6A is a frequency distribution diagram summarizing these observations. It is clear that the P_{O_2} in water where animals

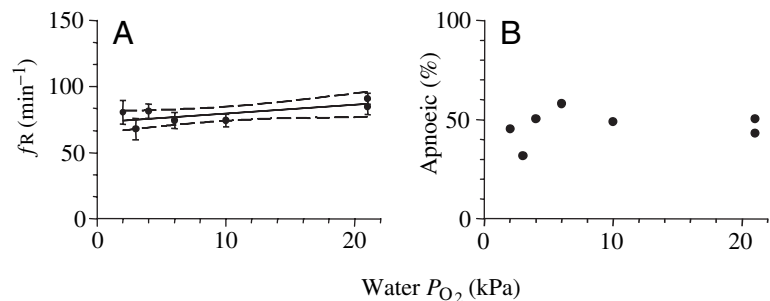
were most frequently found (N=202) ranged from 3 to 5 kPa, although data were not normally distributed and higher values of up to 16–18 kPa were occasionally observed. The above data set consequently demonstrates the existence of a behavioural regulation mechanism of body oxygenation in ostracods.

We next addressed the issue of O_2 diffusion problems in these animals, which lack any blood circulatory system. Specifically, we measured maximum diffusion distances from ventilated water in the domiciliary cavity to the more central tissues. Fig. 7 presents a typical transverse section from a large 500 μ m *Argilloecia* (Fig. 7A) and a 600 μ m *Cyprideis* specimen (Fig. 7B), showing that the maximum diffusion distance for oxygen between ventilated water located between the valves and the body core ranged from 50–100 μ m. The cuticle thickness at soft body level was 2.4 ± 0.2 μ m (N=10 measurements).

Discussion

In this work we have studied the basic principles of respiratory physiology in one of the most primitive animal groups living on earth, the ostracod podocopids. We report that these crustaceans, which lack any blood circulatory system, (1) possess a pair of ventilatory appendages that beat in a similar fashion to modern malacostraceans, (2) lack any regulatory

Fig. 4. Ventilatory response to 2 h exposure periods at various oxygenation levels for all studied podocopids (N=56–106 animals; same data as in Table 2). (A) Respiratory frequencies within bursts, fR, are given as means ± 1 S.E.M. (B) Number of apnoeic animals during each exposure period expressed as percentages of the studied animals. No significant difference was observed as a function of P_{O_2} .



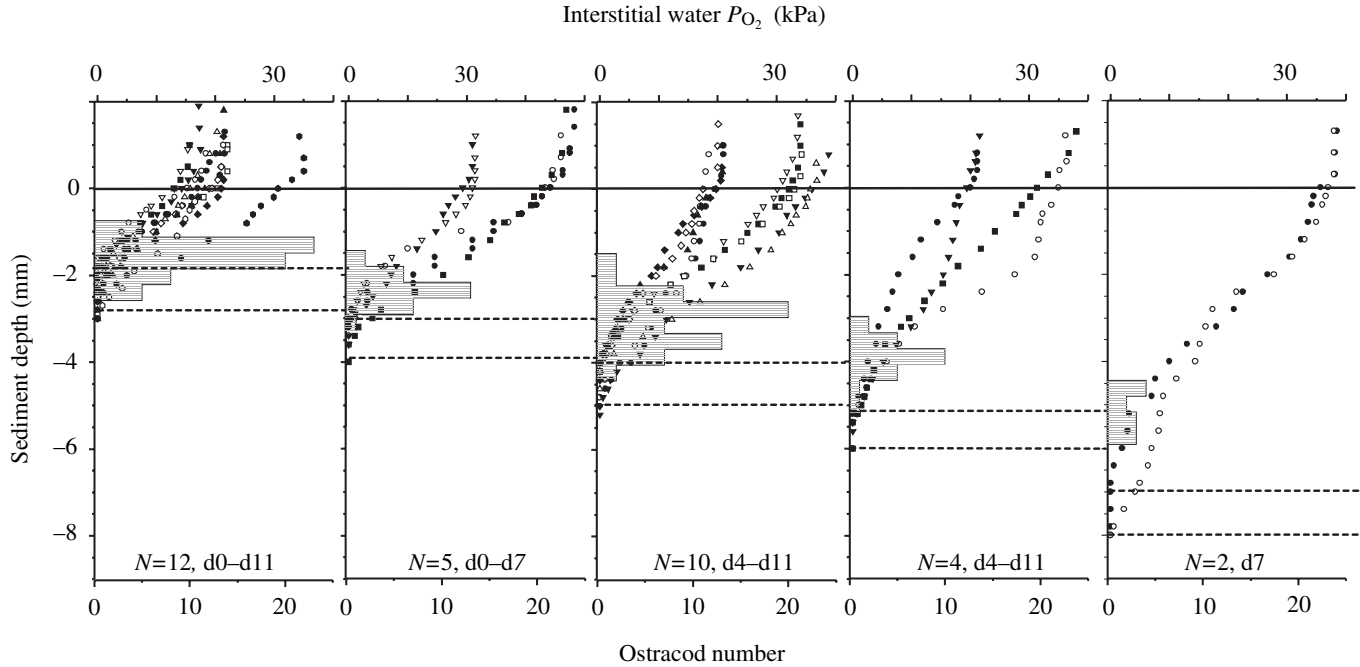


Fig. 5. Relationship between animal positioning (frequency distribution at different depths shown by the grey bars; scale, lower x axis) and O_2 profiles (one symbol type per O_2 profile; scale, upper x axis) as a function of sediment depth in naturally occurring (open and closed triangles, circles and open squares, left panel) and experimentally manipulated O_2 -gradients (water column P_{O_2} =21 or 40 kPa). Analyses were performed at days (d) 0, 4, 7 and 11. As O_2 penetration velocity varied from core to core for the same water column, values of P_{O_2} , O_2 profiles are grouped by similar near anoxic-zone depths (thickness, 1 mm; dotted lines) independent of exposure time. The animal's position followed the O_2 profiles, and were independent of sediment depth and time. N is the number of analysed cores per O_2 profile penetration depth.

mechanism of ventilatory adaptation to changes in water oxygenation, (3) possess an O_2 -chemosensitivity, and (4) adjust the oxygenation status in their internal environment by migrating into O_2 gradients at water P_{O_2} values of 3–5 kPa. Importantly, experimental manipulation of oxygen in the gradient induces this migration and demonstrates the existence of a regulation strategy. An inspired P_{O_2} value of 3–5 kPa must be associated with lower P_{O_2} values between the animal's valves and evidently at tissue level, showing that podocopids actively regulate their cellular P_{O_2} to low and constant values. We therefore suggest that the low tissue P_{O_2} strategy that has been reported in present water-breathers and air-breathers also exists in podocopids. Its aim is to maintain a cellular P_{O_2} within a low range, possibly 1–3 kPa. This strategy is irrespective of species and phyla, living medium (water or air), animal architecture and size, temperature and resting metabolic level. Podocopid ostracods are early animals and, in blood of modern water-breathers and mammalian tissues, P_{O_2} levels are within

the same low range (Fig. 6B,C), which reinforces the postulate that evolution has maintained our cellular oxygenation status at a primitive and protective level (Massabuau, 2001, 2003). Ostracods were present from 540–500 million years ago

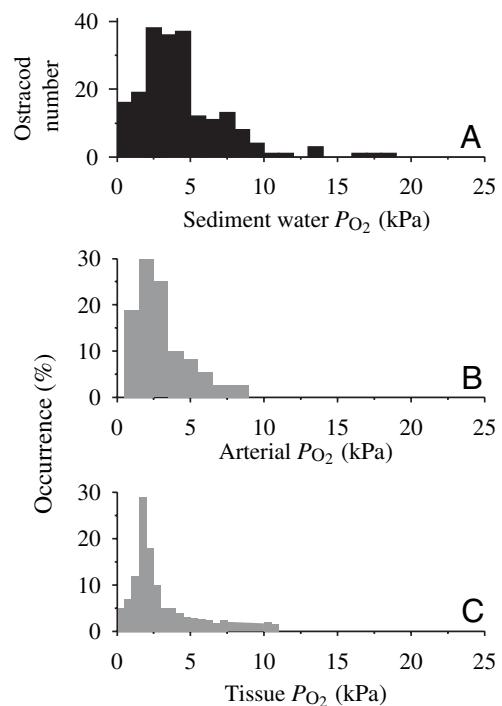


Fig. 6. (A) Frequency distribution of ostracods as a function of water P_{O_2} in the sediment. Note that the values are not normally distributed and the podocopids were most frequently present in the range 3–5 kPa. (B) Frequency distribution of arterial P_{O_2} in the Chinese crab *Eriocheir sinensis* in normoxia (P_{O_2} =21 kPa) from Forgue et al. (1992). (C) Frequency distribution of tissue P_{O_2} in mammalian brains at 37°C (cerebral cortex of rat from Lübbers; Siesjö, 1978). Note the impressive similarity of oxygen status, despite the large evolutionary gap.

through Phosphatocopids (Müller, 1982; Siveter et al., 2001), and they could be among the first links in a chain originating from the Proterozoic ages.

Comparison with previous data

To our knowledge, very little data relating to respiratory problems in ostracod podocopids have been published. In fact, the study of living ostracods has been dominated by zoologists and micropaleontologists developing geological applications (palaeoenvironment and stratigraphy). Consequently, how the carapace is produced, together with valve morphology in relation to habitat, has been extensively studied. By contrast, there is much less information about the soft anatomy (Okada, 1982; Keyser, 1990) and physiological data is scarce (Van Morkhoven, 1962; Maddocks, 1992). Hagerman (1969) reported on oxygen consumption and anaerobic survival in the brackish water podocopid *Hirschmannia viridis* (Muller) at 20°C. He reported that *Hirschmannia* did not survive anaerobic conditions for 13 h ($LC_{50}=7$ h) and water $P_{O_2}\approx 2$ kPa for 160 h ($LC_{50}=55$ h). Interestingly, he did not observe any mortality at water $P_{O_2}\approx 4$ kPa. These data are consequently in good agreement with the present report and would suggest that the presence of ostracods at water $P_{O_2}\approx 2$ kPa, as shown in Figs 5 and 6A, could be only transitory. Variability evidently exists between species, however, as Danielopol et al. (1993) reported that the freshwater *Limnocythere inopinata* survived a 96 h exposure period at 0.2 kPa, but *Metacypriis cordata* did not (at 11°C). It is also noteworthy that Geiger (1990) studied the distribution of freshwater podocopids *Cytherissa lacustris* in sediments from Lake Mondsee, Austria. He reported that *C. lacustris* was most abundant 5–10 mm below the sediment–water interface and that the maximum O_2 penetration depth was 5–8 mm, depending on the O_2 concentration in the overlaying water. This evidently reflects the positioning in the sediment O_2 profile as described in the present study. Some information about scaphognathite frequency in *Metacypriis cordata* (ostracod podocopid) was also reported by Danielopol et al. (1993). These authors worked on two individuals immobilised upside down at different water P_{O_2} values. They reported that ventilatory activity was irregular and infrequent at $P_{O_2}=15$ kPa (11°C), with a ventilatory frequency ranging from 0–10 beats min^{-1} . Between $P_{O_2}=0.4$ –0.8 kPa, they reported a change in the beating frequency from 0 to 50 min^{-1} but the scarcity of their observations evidently limited any conclusion.

O_2 diffusion problems in tissues

The present report, together with Geiger's data (Geiger, 1990) demonstrate that ostracod podocopids live at low

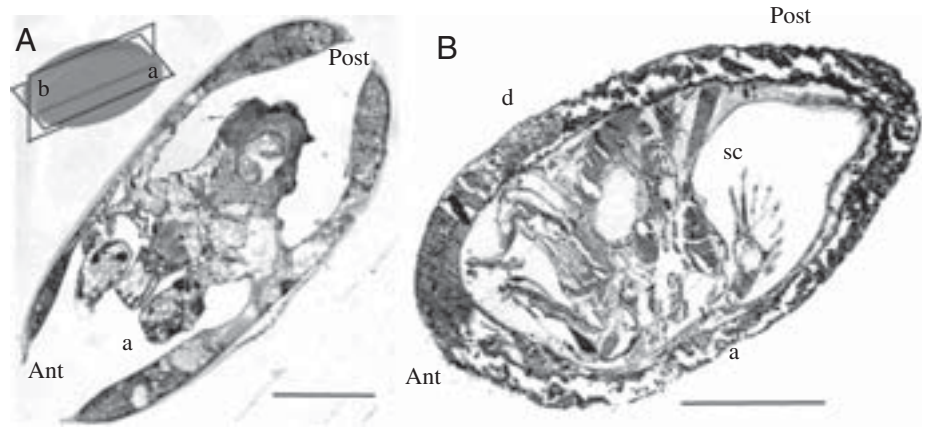


Fig. 7. Ostracod morphology and gas diffusion distance in two typical podocopids. Inset, section positioning view of A and B: a, longitudinal section, view A; b, sagittal section, view B. (A) Longitudinal view in an *Argilloecia* specimen. (B) Sagittal view in a *Cyprideis* specimen. The diffusion distance between water in the domiciliary cavity and the most central tissues never exceeds 60 μm . Ant, anterior; post, posterior; d, dorsal; v, ventral; sc, scaphognathite. Scale bars, 100 μm .

ambient P_{O_2} , in the sediment, far from air-equilibrated waters. This evidently raises the question of how oxygen diffuses in the animal's soft body. The problem of the maximal body size of small animals in which O_2 can penetrate by pure diffusion has often been addressed since the pioneer works of Harvey (1928) and Krogh (1941). Assuming a homogeneous spherical body in which oxygen is consumed at a constant rate, and assuming that P_{O_2} at the centre is 0, the maximum diffusion distance is $x=\sqrt{6K_{O_2}P_{O_2}/M_{O_2}}$, where K_{O_2} is the Krogh's constant of diffusion ($\mu mol h^{-1} cm^{-1} kPa^{-1}$), P_{O_2} is the O_2 partial pressure in water (i.e. in the domiciliary cavity in podocopids) and M_{O_2} is the rate of O_2 consumption or flux ($\mu mol h^{-1} cm^{-3}$). Paul et al. (1997), taking as an example *Daphnia magna*, which is also a millimetre sized crustacean (1–4 mm; Kobayashi, 1982), a Krogh's constant of $0.378 \times 10^{-3} \mu mol h^{-1} cm^{-1} kPa^{-1}$ (Bartels, 1971) and a M_{O_2} value of $39 \mu mol h^{-1} cm^{-3}$ (from Kobayashi and Hoshi, 1984), calculated that the maximum diffusion depth is 340 μm for an external P_{O_2} of 21 kPa, 280 μm for 13.3 kPa, 200 μm for 6.7 kPa and 140 μm for 3.3 kPa. Similarly, Vannier and Abe (1995) calculated a critical radius at water $P_{O_2}=21$ kPa of 1 mm, over which O_2 diffusion is not sufficient to supply a spherical ostracod. In the present work, we studied animals having a maximum diffusion distance of 50–100 μm from the domiciliary cavity to the deepest tissues, and report their spontaneous positioning at inspired $P_{O_2}=3$ –5 kPa. Our results are thus consistent with simple O_2 -diffusion capability, especially as *D. magna* is a so-called active species, while ostracods are much more sluggish.

Oxygen control mechanism in ostracods

The present results show that the ostracod podocopids we studied lack the ventilatory regulation mechanism present in crustaceans (Childress, 1971; Massabuau and Burtin, 1984;

McMahon, 2001; Pirow and Buchen, 2004), fish (Eclancher, 1972; Shelton et al., 1986), molluscs (Tran et al., 2000), amphibians and reptiles (Shelton et al., 1986), birds and mammals (Dejours, 1981; Bouverot, 1985). Note that the six species we studied were randomly chosen among podocopids inhabiting deep-sea and shallow waters and are thus representative of many, if not all, endobenthic podocopids. Paul et al. (1997) and Pirow and Buchen (2004) also studied the principles of respiratory physiology in the minute crustacean *D. magna*. In brief, they reported the existence of cardio-circulatory adaptations to hypoxia, and recently Pirow and Buchen (2004) demonstrated an O₂-ventilatory drive. Thus, in contrast to our findings, in *Daphnia* a high ventilatory activity copes with a decrease in ambient oxygen availability. There are, however, numerous fundamental differences between cladocera and podocopids. First, *Daphnia* are planktonic filter feeders, which lack scaphognathites but do possess thoracic appendages. The beating of these thoracic appendages causes efficient ventilation within the animal's filtering chamber because this region is well irrigated and P_{O₂} is lowered in the exiting water (Pirow et al., 1999). In addition *Daphnia* possess a heart and a simple circulatory system containing haemoglobin, whose concentration and affinity varies according to ambient oxygenation status. Podocopids, on the other hand, possess a pair of scaphognathites, as present in malacostraceans, but no circulatory system. Finally, ostracod podocopids have been present since the lower Cambrian, whereas *Daphnia* probably appeared more recently as they have only been reported from the Permian (250–300 million years old; Schram, 1982).

Importantly, we found that podocopids regulate their tissue O₂ status by behavioural adaptation. Indeed, they escape both the more oxygenated and anoxic pore waters by moving into the sediment and following O₂ profile displacements, independent of time and sediment depth. The maximum velocity reported was 1 cm min⁻¹ in *Metacypris cordata* (Danielopol et al., 1993) which is consistent with the O₂ kinetics that we imposed in sediments. To our knowledge, this is the first time that such a chemotropism has been demonstrated in ostracods. It demonstrates in these early crustaceans the existence of an O₂ chemosensitivity that is either of peripheral or central origin. In crayfish (Massabuau et al., 1980; Ishii et al., 1989) and fish (Shelton et al., 1986), the presence of peripheral O₂ chemoreceptors has been reported at gill level. Importantly also, the ventilatory control loop appears incomplete in podocopids, as the ventilatory frequency was definitively independent of any change in water P_{O₂}. In their biotopes, ostracod positioning is evidently not only driven by oxygenation problems but also by feeding. Ostracods sweep bacteria, algae, protozoa and small particles of detritus into their mouths with the fine, feather-like hairs attached to their appendages (Elofson, 1941; Horne, 2003). In the Bay of Arcachon, organic material is homogeneously present in the first centimetres of sediment, partly due to bioturbation processes (Relexans et al., 1992). Thus, it is likely that in the present experimental conditions, food availability in

the layers where the podocopids are living was not a limiting step that significantly interfered with ostracod displacement.

Physiology of the crustacean respiratory system viewed from an evolutionary perspective

In Macrura and Brachyura, which are modern malacostraceans, the rhythmic movement of each scaphognathite is controlled by five levator and five depressor muscles, innervated by two motoneurons arising from a central pattern generator (CPG; Simmers and Bush, 1983) located either in the suboesophageal or thoracic ganglion (Pasztor, 1968; Young, 1975). In ostracods, despite the fact that they are early crustaceans, there is already a well-developed cerebrum, a circumoesophageal ring of ganglia, a chain of ventral ganglia and a network of motor nerves connected to the various muscles of the oral and posterior regions (Rome, 1947; Hartmann, 1967). As we have reported, the activity pattern of the scaphognathites is also perfectly well organised (Vannier and Abe, 1995) and similar to that observed in modern crustaceans (Young, 1975). Their rhythmic movement is controlled by four muscles innervated by nerves originating from the circumoesophageal ganglia (Hartmann, 1967). Because there is now considerable evidence from a variety of different invertebrates that the major features of the motor patterns underlying rhythmic behaviour are essentially determined by CPG within the central nervous system (Harris-Warrick et al., 1992; Marder and Bucher, 2001), it is thus very likely that such a respiratory CPG does exist in podocopids. The idea of a central unique CPG is indeed reinforced by the observation of a strong bilateral coordination, which suggests a unique central neuronal connectivity. This strongly suggests that the existence of central neuronal circuits (here respiratory centres) capable of producing a rhythmic movement, possibly appeared very early in the course of evolution.

Horseshoe crabs *Limulus polyphemus* are more closely related to chelicerates than they are to true crustaceans, but they have also evolved little in the past 250 million years and have probably existed since the Silurian period (440–410 million years ago). Interestingly, their ventilatory pattern has also been reported as highly variable (Watson, 1980; Mangum and Ricci, 1989), a CPG displaying pattern motor outputs characteristic of rhythmic gill ventilation has been described (Wyse et al., 1980), and an absence of ventilatory change from normoxia to hypoxia has been reported (Mangum and Ricci, 1989). All taken together, this set of observations appears to be similar to our findings in the podocopids.

Finally, it is worth noting that diverse features can be taken as signs of immaturity and/or primitive status of the respiratory centres in podocopids. First, in resting crustacean decapods such as the green crab *Carcinus maenas*, the gill chambers are irrigated by regular rhythmic beating of the bilateral pair of scaphognathites with short pauses (mean duration, 13 s; frequency, 70 h⁻¹; Jouve-Duhamel and Truchot, 1983), while in podocopids longer pauses (up to at least 60 min), exhibiting an apparently erratic frequency are observed (Fig. 3A,B). In *Carcinus*, their frequency and duration were largely decreased

by exposure to hypoxia (Taylor, 1982; Jouve-Duhamel and Truchot, 1983), which contrasts markedly with the situation reported here. Second, most decapods are capable of periodically reversing the direction of ventilatory current flow (Arudpragasam and Naylor, 1964; Hughes et al., 1969). One motor programme, driven by a specific set of motoneurons and underlying reversed beating of the scaphognathites, is responsible for this pattern (Simmers and Bush, 1983). Its functional significance is not clearly understood, but it appears to be important in cleaning detritus in the branchial cavities. In podocopids, it could also be important to clean the domiciliary cavity, as the animals are living between detritus in muddy sandy sediments. However, despite a total of ~750 h analysis of breathing patterns, we never once observed any reversal, which strongly suggests their absence or, at least low occurrence. Finally, but importantly, the present data demonstrate that changes in water P_{O_2} had no regulatory effect on the breathing rhythm, which is most certainly a major primitive characteristic. Indeed, the ability of an organism to maintain the homeostasis of its internal environment, independently of its external environment, has been one of the fundamental keys of evolution. Based on the present work, podocopids appear, by contrast, firmly subordinated to sediment layers containing low oxygen levels.

In conclusion, the present data obtained in podocopids strongly suggest that the strategy of low tissue P_{O_2} could have existed in early animals, even if they exhibited immature physiological ventilatory regulation mechanisms. This reinforces the hypothesis of an appropriate regulation of the cellular O_2 status, strongly conserved throughout the evolutionary process. In this view, one can suggest that, once the oxygen concentration on the earth started to increase, podocopids used the hypoxic layers in the sediment as an ecological refuge while their ancestors could live in an open but hypoxic ocean. This is of course speculation, but it is obvious that, whatever evolutionary solution they developed, it has been exceptionally efficient as they are today among the oldest living animals present on our planet and one of the largest crustacean groups.

We thank Rudiger Paul for inspiring the optophysiological set-up and P. Ciret and N. Mesmer-Dudons for their invaluable technical support. Thanks to P. Anschutz, A. Gondolfi, D. Keyser, J. P. Peypouquet, R. Pirow, J. C. Sorbe and J. Vannier for helpful discussions or comments. The authors are most grateful to the crewmembers of the RV *Côtes de la Manche* for their help in the field research performed in the Bay of Biscay in the course of the Oxybent program.

References

- Arudpragasam, K. and Naylor, E. (1964). Gill ventilation and the role of reversed respiratory currents in *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **41**, 299-307.
- Bartels, H. (1971). Respiration and circulation. In *Biological Handbooks* (ed. P. Altman and D. Dittmer), pp. 16-20. New York: Federation of the American Societies of Experimental Biology.
- Bekker, A., Holland, H. D., Wang, P. L., Rumble, D., Stein, H. J., Hannah, J. L., Coetzee, L. and Beukes, N. J. (2004). Dating the rise of atmospheric oxygen. *Nature* **427**, 117-120.
- Berner, R. A. and Canfield, D. E. (1996). A new model for atmospheric oxygen over phanerozoic time. *Am. J. Science* **289**, 333-361.
- Bouverot, P. (1985). *Adaptation To Altitude – Hypoxia in Vertebrates*. Berlin: Springer.
- Canfield, D. E. (1998). A new model for proterozoic ocean chemistry. *Nature* **396**, 450-453.
- Carbonel, P. (1978). Densités fauniques d'ostracodes en milieu intertidal euryhalin: rôle de l'émersion. *Bull. Inst. Geol. Bassin d'Aquitaine* **23**, 165-171.
- Carbonel, P. (1980). Les ostracodes et leur intérêt dans les définitions des écosystèmes estuariens et de plateforme continentale, essais d'application à des domaines anciens. PhD thesis, Département Géologie Océanographie: Université Bordeaux I, France.
- Childress, J. (1971). Respiratory adaptations to the oxygen minimum layer in the bathypelagic mysid *Gnathophausia ingens*. *Biol. Bull.* **141**, 109-121.
- Danielopol, D., Horne, D. and Wood, R. (1993). Notes on the ecology of *Metacypis cordata* (Ostracoda, Timiriaseviinae). In *Proceedings of the 2nd European Ostracodologists' Meeting* (ed. M. C. Keen), pp. 139-165. Glasgow, UK: British Micropalaeontological Society.
- Dauvin, J., Sorbe J. C. and Lorgere J. C. (1995). Benthic Boundary Layer macrofauna from the upper continental slope and the Cap-Ferret canyon. *Oceanol. Acta* **18**, 113-122.
- Dejours, P. (1981). *Principles of Comparative Respiratory Physiology* (2nd edn). Amsterdam: Elsevier/North-Holland.
- Eclancher, B. (1972). Action des changements rapides de P_{O_2} de l'eau sur la ventilation de la truite et de la tanche. *J. Physiol.* **65**, 397A.
- Elofson, O. (1941). Zur Kenntnis der marinen Ostracoden Schwedens mit besonderer Berücksichtigung des Skagerraks. *Zool. BiDr Upps.* **19**, 215-534.
- Forge, J., Truchot, J. P. and Massabuau, J. C. (1992). Low arterial P_{O_2} in resting crustaceans is independent of blood oxygen-affinity. *J. Exp. Biol.* **170**, 257-264.
- Geiger, W. (1990). The role of oxygen in the disturbance and recovery of the *Cytherissa lacustris* population of Mondsee (Austria). *Bull. Inst. Geol. Bassin d'Aquitaine* **47**, 167-189.
- Hagerman, L. (1969). Respiration, anaerobic survival and diel locomotory periodicity in *Hirschmannia viridis*. Müller (Ostracoda). *Oikos* **20**, 384-391.
- Han, T. M. and Runnegar, B. (1992). Megascopic eukaryotic algae from the 2.1 billion-year-old Negaunee Iron-Formation, Michigan. *Science* **257**, 232-235.
- Harris-Warrick, R., Marder, M., Selverston, A. and Moulins, M. (1992). *Dynamic Biological Networks: The Stomatogastric Nervous System*. Boston: MIT Press.
- Hartmann, G. (1967). Arthropoda, Crustacea 2. *Bronn's Kl Ordn Tierreichs Buch IV Teil 2*, 217-408.
- Harvey, E. (1928). The oxygen consumption of luminous bacteria. *J. Gen. Physiol.* **11**, 469-475.
- Holland, H. (1994). Early proterozoic atmospheric change. In *Early Life On Earth*, Nobel Symposium 84, pp. 237-244. New York, USA: Columbia University Press.
- Horne, D. J. (2003). Key events in the ecological radiation of the Ostracoda. In *Bridging the Gap: Trends in the Ostracode Biological and Geological Sciences. The Paleontological Society*, vol. 9 (ed. L. E. Park and A. J. Smith), pp. 181-201. Tuscaloosa, USA: The Paleontological Society.
- Horne, D., Cohen, A. and Martens, K. (2002). Taxonomy, morphology and biology of Quaternary and living Ostracoda. In *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research. Geophysical Monograph*, vol. 131 (ed. J. A. Holmes and A. R. Chivas), pp. 5-36. Washington, DC, USA: American Geophysical Union.
- Hughes, G., Knights, B. and Scammel, C. (1969). The distribution of P_{O_2} and hydrostatic pressure changes within the branchial chamber in relation to gill ventilation of the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **5**, 200-203.
- Ishii, K., Ishii K., Massabuau, J. C. and Dejours P. (1989). Oxygen-sensitive chemoreceptors in the branchio-cardiac veins of the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Respir. Physiol.* **78**, 73-81.
- Jouve-Duhamel, A. and Truchot, J.-P. (1983). Ventilation in the shore crab *Carcinus maenas* as a function of ambient oxygen and carbon dioxide: field and laboratory studies. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **70**, 281-296.
- Keyser, D. (1990). Morphological changes and function of the inner lamella layer of podocopid Ostracoda. In *Ostracoda and Global Events* (ed. L.

- Chapman and Hall), pp. 401-410. London, UK: British Micropaleontological Society Series.
- Kobayashi, M.** (1982). Influence of body size on haemoglobin concentration and resistance to oxygen deficiency in *Daphnia magna*. *Comp. Biochem. Physiol.* **72A**, 599-602.
- Kobayashi, M. and Hoshi, T.** (1984). Analysis of respiratory role of haemoglobin in *Daphnia magna*. *Zool. Sci.* **1**, 523-532.
- Krogh, A.** (1941). *The Physiology of Respiration Mechanisms*. Philadelphia: University Pennsylvania.
- Maddocks, R.** (1992). Ostracoda. In *Microscopic Anatomy of Invertebrates*, vol. 9 (ed. A. G. Humes), pp. 415-441. New York: Wiley-Liss.
- Mangum, C. and Ricci, J.** (1989). The influence of temperature on O₂ uptake and transport in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **129**, 243-250.
- Marder, E. and Bucher, D.** (2001). Central pattern generators and the control of rhythmic movements. *Curr. Biol.* **11**, R986-R996.
- Massabuau, J. C.** (1983). The respiratory system of the crayfish (a gas and ion exchanger). *J. Physiol.* **345**, 15.
- Massabuau, J. C.** (2001). From low arterial- to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory. *Resp. Physiol.* **128**, 249-261.
- Massabuau, J. C.** (2003). Primitive, and protective, our cellular oxygenation status? *Mech. Ageing Dev.* **124**, 857-863.
- Massabuau, J. C. and Burtin, B.** (1984). Regulation of oxygen consumption in the crayfish *Astacus leptodactylus* at different levels of oxygenation: role of peripheral O₂ chemoreception. *J. Comp. Biol.* **115**, 43-49.
- Massabuau, J. C., Eclancher, B. and Dejours, P.** (1980). Ventilatory reflex response to hyperoxia in the crayfish, *Astacus pallipes*. *J. Comp. Physiol. B* **140**, 193-198.
- McMahon, B.** (2001). Control of cardiovascular function and its evolution in Crustacea. *J. Exp. Biol.* **204**, 923-932.
- Müller, K.** (1982). *Hesslandona unisulcata* sp.nov. with phosphatised appendages from Upper Cambrian 'Orsten' from Sweden. In *Fossil and Recent Ostracods*, vol. 22 (ed. R. H. Bate, E. Robinson and L. M. Sheppard), pp. 276-304. London, UK: British Micropalaeontological Society.
- Okada, Y.** (1982). Ultrastructure and pattern of the carapace of *Bicornucythere bisanensis* (Ostracoda, Crustacea). In *Studies on Japanese Ostracoda*, vol. 20 (ed. T. Hanai), pp. 229-255. Tokyo, Japan: University of Tokyo Press.
- Pasztor, V.** (1968). The neurophysiology of respiration in decapod Crustacea. The motor system. *Can. J. Zool.* **46**, 585-596.
- Paul, R., Colmorgen, M., Hüller, S., Tyroller, F. and Zinkler, D.** (1997). Circulation and respiratory control in millimetre-sized animals (*Daphnia magna*, *Folsomia candida*) studied by optical methods. *J. Comp. Physiol. B* **167**, 399-408.
- Pirow, R. and Buchen, I.** (2004). The dichotomous oxyregulatory behaviour of the planktonic crustacean *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* **207**, 683-696.
- Pirow, R., Wollinger, F. and Paul, R.** (1999). The importance of the feeding current for oxygen uptake in the water flea *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* **202**, 553-562.
- Relxans, J. C., Castel, J., Excaravage, V. and Auby, I.** (1992). Benthic respiratory potential with relation to sedimentary carbon quality in seagrass beds and oyster parks in the tidal flats of Arcachon Bay, France. *Estuar. Coast. Shelf S.* **34**, 157-170.
- Rome, D. R.** (1947). *Herpetocypris reptans* (ostracoda) étude morphologique et histologique. Morphologie externe et système nerveux. *La cellule (Leuven)* **51**, 51-152.
- Schram, F.** (1982). The fossil record and Evolution of Crustacea. In *The Biology of Crustacea*, vol. 1 (ed. L. G. Abele), pp. 93-147. New York: Academic Press.
- Shelton, G., Jones, D. and Milsom, W.** (1986). Control of breathing in ectothermic vertebrates. In *Handbook of Physiology: The Respiratory System*, (ed. A. P. Society), pp. 857-909: Bethesda, MD: American Physiological Society.
- Shu, D., Vannier, J., Huilin, L., Ling, C., Xingliang, Z. and Shixue, H.** (1999). The anatomy and lifestyle of *Kunmingella* (Arthropoda, Bradoriida) from the Chengjiang fossil Lagerstätte (early Cambrian; Southern China). *Lethaia* **32**, 279-298.
- Siesjö, B. K.** (1978). *Brain Energy Metabolism*. New York, Brisbane, Toronto: Wiley.
- Simmers, J. and Bush, B.** (1983). Motor programme switching in the ventilatory system of *Carcinus maenas*: the neuronal basis of bimodal scaphognathite beating. *J. Exp. Biol.* **104**, 163-181.
- Siveter, D., Williams, M. and Waloszek, D.** (2001). A phosphatocopid Crustacean with appendages from the Lower Cambrian. *Science* **293**, 479-481.
- Taylor, E.** (1982). Control and co-ordination of ventilation and circulation in crustaceans: responses to hypoxia and exercise. *J. Exp. Biol.* **100**, 289-320.
- Tran, D., Boudou, A. and Massabuau, J. C.** (2000). Mechanism for maintaining oxygen consumption under varying oxygenation levels in the freshwater clam *Corbicula fluminea*. *Can. J. Zool.* **78**, 2027-2036.
- Vanderkooi, J., Erecinska, M. and Silver, I.** (1991). Oxygen in mammalian tissue: methods of measurement and affinities of various reactions. *Am. J. Physiol.* **260**, C1131-C1150.
- Van Morkhoven, F.** (1962). *Post-Paleozoic Ostracoda, Their Morphology, Taxonomy*. Amsterdam: Elsevier.
- Vannier, J. and Abe, K.** (1995). Size, and body plan and respiration in the Ostracoda. *Paleontol.* **28**, 843-873.
- Waloszek, D.** (1999). On the Cambrian diversity of Crustacea. In *Crustaceans and the Biodiversity Crisis*, vol. 1 (ed. J. C. Schram), pp. 3-27. Leiden: Brill Academic.
- Watson, W.** (1980). Long-term patterns of gill cleaning, swimming, and ventilation in *Limulus*. *J. Comp. Physiol. B* **141**, 77-85.
- Wyse, G., Sanes, D. and Watson, W.** (1980). Central neural motor programs underlying short-and long-term patterns of *Limulus* respiratory activity. *J. Comp. Physiol. B* **141**, 86-95.
- Yamaguchi, S. and Endo, K.** (2003). Molecular phylogeny of Ostracoda (Crustacea) inferred from 18S ribosomal DNA sequences: implication for its origin and diversification. *Mar. Biol.* **143**, 23-28.
- Young, R.** (1975). Neuromuscular control of ventilation in the crab *Carcinus maenas*. *J. Comp. Physiol.* **101**, 1-37.

Des petits crustacés qui ne manquent pas d'air

par

Laure Corbari, Pierre Carbonel et Jean-Charles Massabuau

Pour la science, Juin 2004

DES PETITS CRUSTACÉS QUI NE MANQUENT PAS D'AIR

L'étude des ostracodes, de petits fossiles vivants, nous enseigne que l'oxygénation des cellules était déjà un mécanisme bien rodé il y a plus de 500 millions d'années.

Comment l'activité respiratoire était-elle réglée à l'époque où l'oxygène était rare sur Terre ? Et comment les premiers animaux se sont-ils adaptés à l'augmentation de l'oxygène dans l'atmosphère ? Nous venons d'apporter une réponse à ces questions en étudiant d'étranges petits crustacés qui vivent cachés au fond des lacs et des océans : les ostracodes.

Ces animaux viennent de la nuit des temps puisque leurs plus anciennes traces datent du début du Cambrien, il y a 500 à 550 millions d'années. Par comparaison, le coelacanthe, le plus vieux des poissons, n'a que 300 millions d'années ! Ainsi, les ostracodes sont parmi les plus vieux animaux du monde. Leur succès évolutif a été immense, puisqu'aujourd'hui, on les retrouve sous toutes les latitudes, aussi bien dans de hauts lacs des Andes boliviennes (le lac Licancabur, à 6014 mètres d'altitude), que dans les profondeurs océaniques, en passant par les côtes et les lagunes. Ce sont des animaux discrets, qui ne dépassent pas 0,5 à 3 millimètres et vivent enfouis dans les sédiments, où ils se déplacent entre grains de sable et débris, à l'aide de leurs trois paires de pattes.

Nous avons étudié le groupe d'ostracodes le plus primitif qui rassemble le plus grand nombre d'espèces : les podocopes. Leur appareil ventilatoire a déjà un fonctionnement semblable à celui des crabes, des homards et des crevettes, animaux pourtant beaucoup plus récents. En revanche, ils n'ont ni cœur, ni système circulatoire et les échanges respiratoires se font uniquement par diffusion de l'oxygène de l'eau qu'ils font circuler entre leurs valves grâce à une palette ventilatoire, qui s'agitte telle une petite rame.

Pour examiner la respiration de ces crustacés, nous avons fabriqué des microaquariums, contenant quelques gouttes d'eau, des grains de sable et des débris d'algues, et nous y avons fait varier l'oxygénation de l'eau. Les ostracodes sont incapables d'adapter leur ventilation à ces variations, contrairement aux crustacés et aux poissons modernes. Comment font alors les podocopes pour garder constante leur pression d'oxygène cellulaire, quelle que soit l'oxygénation du milieu ?

Nous avons découvert qu'ils sont inféodés au sédiment où ils vivent. Le sédiment présente un gradient d'oxygénation : les pressions partielles peuvent varier de 21 kilopascals (correspondant aux 21 pour cent d'oxygène dans l'air), à la surface du sédiment, à 0 à quelques centimètres sous la surface. Les ostracodes se positionnent exactement à la profondeur où la pression est comprise entre 3 et 5 kilopascals. Ce faisant, ils bénéficient juste de la pression

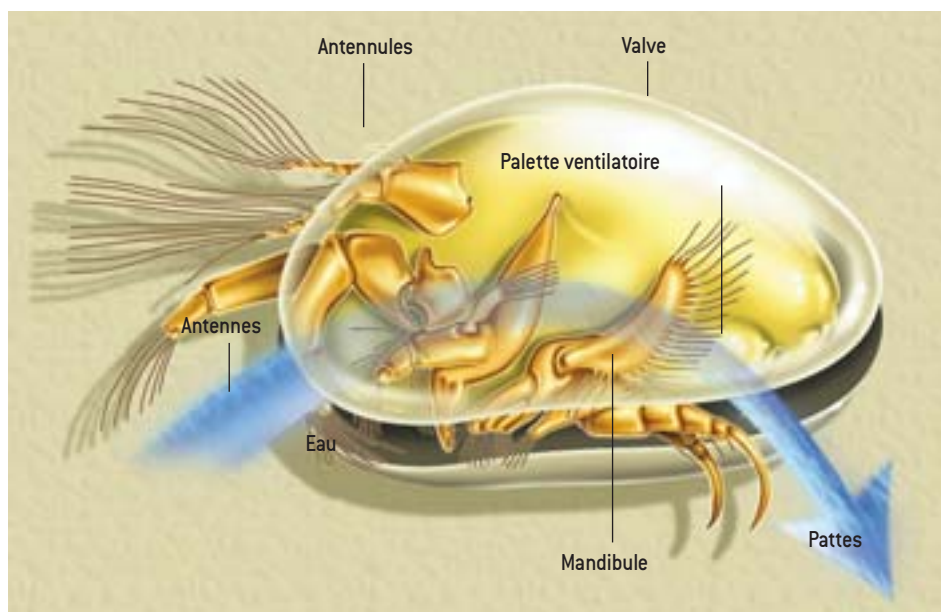
partielle d'oxygène nécessaire et suffisante pour maintenir l'oxygénation de leurs cellules à des valeurs faibles et constantes, identiques à celles du sang de tous les animaux aquatiques modernes et des cellules des mammifères aériens à sang chaud.

Cette observation conforte l'hypothèse évolutive que nous avons déjà formulée. Les premiers organismes apparus il y a deux milliards d'années se sont développés quand la pression partielle d'oxygène était faible sur Terre. Au fil de l'évolution, les animaux aquatiques, puis aériens, se seraient adaptés à l'augmentation de l'oxygène en maintenant l'état d'oxygénation de leurs cellules à la même valeur, faible et constante.

Les ostracodes d'aujourd'hui sont semblables à ceux qui vivaient il y a 500 millions d'années. Dès cette époque, ils étaient capables de détecter des variations d'oxygénation grâce à des chimiorécepteurs spécifiques de l'oxygène, tels ceux de l'écrevisse qui se situent au niveau des branchies. En revanche, ils étaient probablement incapables d'ajuster leur ventilation et se sont sans doute réfugiés dans les sédiments peu oxygénés où on les trouve aujourd'hui (l'oxygène est vital, mais toxique en excès). Si primitive soit-elle, cette adaptation a été efficace et nous permet aujourd'hui de comprendre un peu mieux les mécanismes respiratoires à l'origine de la vie.

L. CORBARI, P. CARBOREL et J.-Ch. MASSABUAU,
Laboratoire d'écophysiologie et écotoxicologie des systèmes aquatiques (UMR 5805), Arcachon

Les ostracodes, de minuscules crustacés (leur longueur est de l'ordre du millimètre), agitent une palette ventilatoire qui fait circuler l'eau entre les deux valves ; les échanges respiratoires se font par diffusion. Les ostracodes ne peuvent s'adapter à des variations de l'oxygénation du milieu. Ils se placent toujours dans les sédiments à la profondeur qui leur offre l'oxygénation optimale.



Delphine Bailly

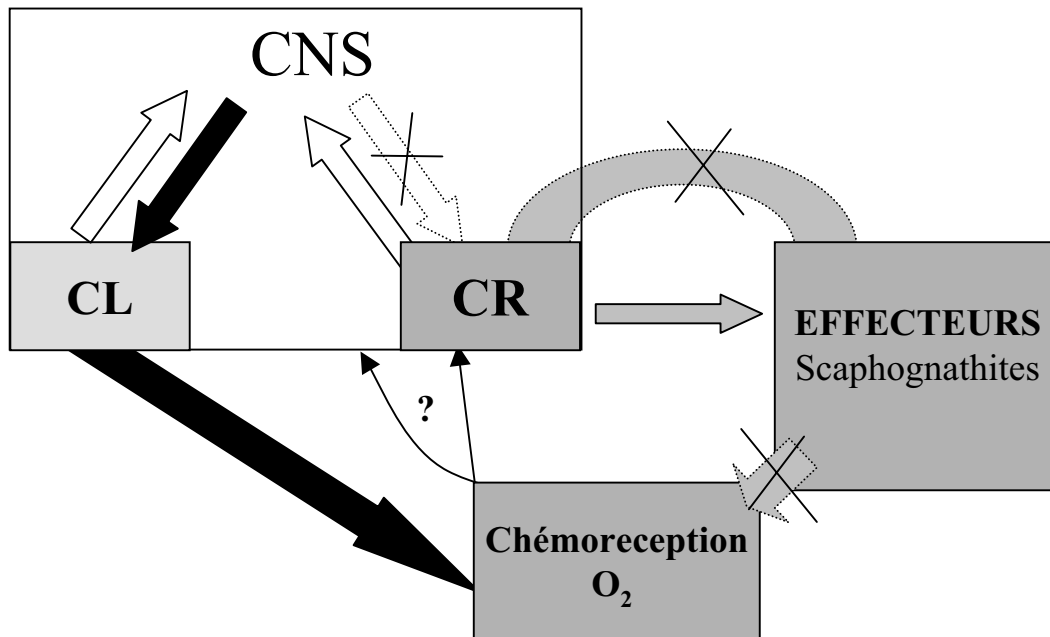


Figure 56 : Schéma de principe de la boucle de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur chez les ostracodes podocopes. Chez les podocopes, il n'y a pas de retour nerveux de la chémoreception sensible à l'oxygène sur les centres respiratoires. La régulation est réalisée par déplacement (locomotion) dans le gradient d'oxygénation du sédiment.

CNS, Centres Nerveux Supérieurs; CR, centres respiratoires; CL, centres locomoteurs.

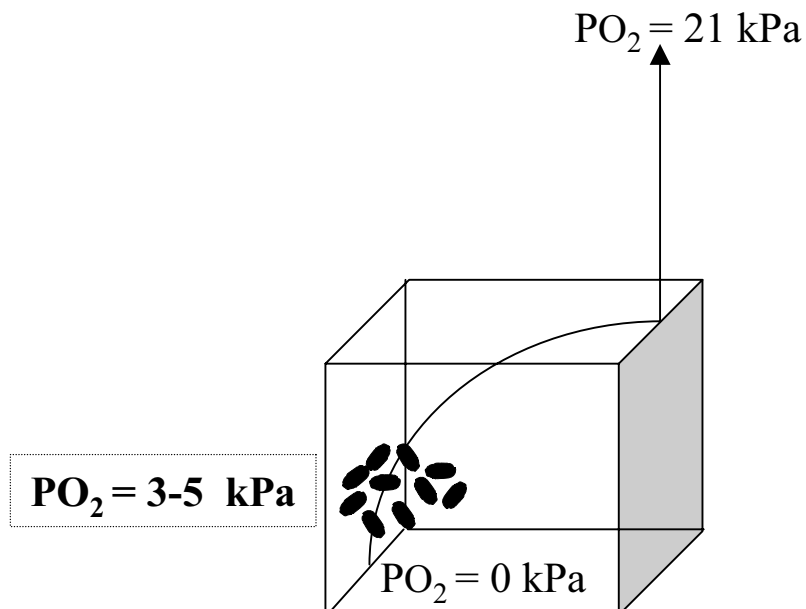


Figure 57: Positionnement des ostracodes podocopes dans le gradient d'oxygénation du sédiment. Les animaux se positionnent préférentiellement dans la zone où la pression partielle d'O₂, PO₂, est de 3-5 kPa. L'oxygénation dans leur milieu intérieur peut donc être dans la gamme 1-3 kPa en accord avec la théorie des faibles PO₂.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié dans ce chapitre, les mécanismes de la régulation de l'approvisionnement en oxygène chez des ostracodes podocopes, crustacés primitifs de taille millimétrique, ne possédant ni système circulatoire, ni branchies mais seulement des effecteurs ventilatoires (scaphognathites) qui assurent directement l'approvisionnement en oxygène par diffusion, au niveau du corps.

Les résultats présentés dans ce chapitre montrent :

- Que les ostracodes podocopes sont incapables d'ajuster leur ventilation afin de maintenir constante l'oxygénation de leur milieu intérieur. Il n'existe donc pas de retour sensoriel efficace, lié à la valeur de PO_2 dans l'eau, le sang ou les tissus, sur les centres respiratoires et de contrôle par ces centres de la ventilation (*i.e.* les scaphognathites) en fonction de l'oxygénation de l'eau (Fig. 56).

- Les podocopes règlent tout de même à de faibles valeurs d'oxygénation leur milieu intérieur, en se positionnant dans le gradient d'oxygénation du sédiment à des valeurs comprises entre 3 et 5 kPa et maintiennent de ce fait l'état d'oxygénation de leurs cellules par stratégie comportementale.

Il existe donc une chémoréception à l'oxygène (périphérique ou centrale ?) chez les podocopes qui agit soit via les centres respiratoires ou directement sur les centres nerveux supérieurs et les centres locomoteurs. Le résultat est un positionnement des animaux à des PO_2 entre 3-5 kPa (Fig. 57).

- L'ensemble de ces résultats démontre que chez ces animaux, qui sont apparus il y a plus de 500 MA, il existe déjà une stratégie de maintien de l'oxygénation des cellules à des faibles niveaux. Ce maintien est le résultat d'une régulation puisque ces valeurs sont maintenues constantes lorsque l'oxygénation de l'eau varie.

Comment est réglé l'état d'oxygénation du milieu intérieur chez des ostracodes possédant un système d'échanges gazeux plus évolué, complété par un système circulatoire et des branchies ? Cette complexification s'est-elle accompagnée de l'acquisition de système de réglage autonome ? C'est ce que nous aborderons dans le chapitre 4, en étudiant les mydocopes nectobenthiques comme l'espèce *Cylindroleberis mariae* qui possèdent des scaphognathites, un cœur et des branchies.

Chapitre 4

LES MYODOCOPES

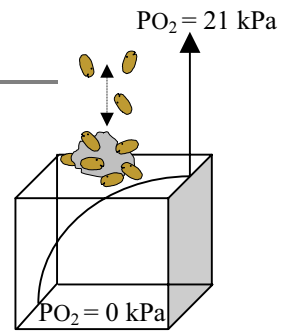
Chapitre 4 – LES MYODOCOPES

INTRODUCTION

RESULTATS

- * The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*
Corbari L, Carbonel P and Massabuau J-C (2005) Journal of Experimental Biology
208,661-670

CONCLUSIONS



INTRODUCTION

Nous venons de voir qu'il existe donc chez les ostracodes podocopes des mécanismes de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur. Ces capacités d'adaptation ne se traduisent pas par une régulation intrinsèque de la ventilation mais par une adaptation comportementale : les ostracodes podocopes, endobenthiques, migrent dans le gradient d'oxygénation du sédiment pour se positionner préférentiellement à une pression partielle en oxygène comprise entre 3-5 kPa. La stratégie des faibles oxygénations du milieu intérieur a donc pu être mise en place très tôt dans l'évolution.

A partir de ces conclusions, il était fondamental d'élargir nos conclusions sur un autre groupe d'ostracodes présentant une écologie différente mais surtout possédant un équipement respiratoire plus complet (cœur, système circulatoire et branchies). C'est dans ce but que nous avons étudié la physiologie respiratoire de l'espèce de myodocope, *Cylindroleberis mariae*. Comment ces ostracodes maintiennent-ils l'oxygénation de leur cellules ?

Grâce à la découverte récente d'un fossile de la famille des Cylindroleberidae auquel appartient l'espèce étudiée (Silurien inférieur ; Siveter et al., 2003), il existe depuis peu la preuve de l'existence de ce groupe depuis environ 425 millions d'années.

Dans ce quatrième chapitre, nous montrons que les ostracodes myodocopes, tout comme les podocopes, sont incapables d'ajuster leur activité ventilatoire et cardiaque de manière autonome pour faire face à des changements d'oxygénation de l'eau. Par contre, ils adoptent comme les podocopes une stratégie d'adaptation liée au comportement. Durant la journée, au repos, ils restent positionnés dans des nids qu'ils fabriquent où ils trouvent des conditions hypoxiques et hypercapniques. Durant la nuit, ils migrent dans la colonne d'eau, où ils trouvent des conditions normoxique et normocapnique. Nous verrons que chez l'écrevisse et le crabe, des changements similaires de composition en gaz respiratoire du milieu intérieur ont déjà été décrits comme participant à la modulation du comportement.

The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*.

by

Laure Corbari, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau*

(2005) *Journal of Experimental Biology* **208**, 661-670

The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*

Laure Corbari, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau*

Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie des Systèmes Aquatiques, UMR 5805 Université Bordeaux 1, France
 and CNRS, Place du Dr B. Peyneau, 33120 Arcachon, France

*Author for correspondence (e-mail: jc.massabuau@epoc.u-bordeaux1.fr)

Accepted 1 December 2004

Summary

We studied basic principles of respiratory physiology in *Cylindroleberididae*, *Cylindroleberis mariae* Baird 1850, which are millimetre-sized crustaceans (myodocop ostracod) having a fossil record dating back to about 425 millions years ago. Facing experimental changes of O_2 partial pressures in the range 2–40 kPa (normoxia is 21 kPa), *C. mariae* lack any regulatory mechanism to adapt their ventilatory and circulatory activity. Thus, the oxygenation status of their internal milieu must follow, as a dependant variable, the ambient oxygenation. Freely behaving *C. mariae* exhibit a marked diurnal activity rhythm. They are actively swimming in the water column during night, where they inspire in normoxic–normocapnic water. They are resting in self-made nests

during daytime, where they are rebreathing in a confined and hypoxic environment. By analogy to extensive previous literature data, we suggest that these changes of respiratory gas content, and the associated tissue gas status, participate to the shaping of their metabolic activity and behaviour. To conclude, as *Cylindroleberididae* are early crustaceans exhibiting a remarkable stasis since the Palaeozoic, present data illustrates how principles of tissue oxygenation strategy can cover an impressive time scale.

Key words: respiration, evolution, crustacea, control of breathing, oxygen regulation, hypoxia, hyperoxia, circadian rhythm.

Introduction

Myodocopid ostracods are small bivalved crustaceans that have a fossil record dating back to the lower Silurian, about 425 million years ago. A well-preserved fossil of *Cylindroleberididae* has been recently described, which demonstrates that there has been a remarkable evolutionary stasis at the morphological level within this group because it has striking similarity to the extant myodocops (Siveter et al., 2003). Consequently, the study of present *Cylindroleberididae* offers an invaluable and, obviously, rare opportunity to analyse how the respiratory process and tissue-oxygenation strategy has evolved since early times.

Water-breathers are usually tolerant to water oxygenation changes. In hypoxia, the general rule is an increase branchial water flow, and many also increase their blood flow rate. Both adaptations allow the animals to maintain their oxygen consumption independent of water oxygenation. Importantly, it also allows an adaptation strategy whereby O_2 partial pressure, P_{O_2} , in the arterial blood is maintained within a low and narrow range of 1–3 kPa, largely independent of inspired P_{O_2} (Massabuau, 2001). This has been reported in fish, crustacean, mollusc and annelid. Interestingly, in mammalian tissues the most frequently measured P_{O_2} is also in the same low range. Based on the postulate that basic cellular machinery has been established since the early stages of

evolution, it has been proposed that this similarity in oxygenation status is the consequence of an early adaptation strategy that, subsequently, throughout the course of evolution, maintained cellular oxygenation in the low and primitive range at which eukaryotic cells appeared two billions years ago (Massabuau, 2001, 2003). Podocopid ostracods, which represent the largest ostracod group, are heart- and gill-less crustaceans although they do possess ventilatory appendages. They have existed on earth for at least 500 million years and they also follow the same regulation strategy. However, and contrary to most water-breathers, podocopids lack any regulatory mechanism of ventilatory adaptation to face changes in water oxygenation. Instead, they adjust their tissue oxygenation status by migrating into sediment O_2 -gradients to find low water P_{O_2} niches (Corbari et al., 2004). Thus, the podocopid data set reinforced the ideas that: (1) the level of oxygenation at individual tissue or cellular levels is a fundamental problem of homeostasis irrespective of species difference; and (2) it could have been held constant during the evolution of life to retain the original oxygenation status.

To get more insights into this evolutionary theory we studied myodocopid ostracods. Myodocopid ostracods appear, from a morphofunctional perspective, to be more

evolved by comparison with podocopid ostracods. Indeed, they possess not only a ventilatory system, composed of two scaphognathites ventilating a domiciliar cavity, but also a cardiovascular system composed of a well-differentiated heart and, in the *Cylindroleberid* family, 6–8 lamellar gills (Vannier et al., 1996; Horne et al., 2002). Based on previous evidence, the homeostasis of their internal milieu, in terms of oxygen, should be maintained by some regulatory mechanisms involving an autonomous or behavioural adaptive process. Consequently, our aim was to study how tissue oxygenation status is regulated in *Cylindroleberid* myodocops. During evolution, myodocops have acquired a large variety of lifestyles either benthic, nektobenthic or exclusively planktonic. They are confined to seawaters where they colonized the shallowest coastal as well as the deepest bathyal and abyssal environments worldwide (Horne et al., 2002). The species we studied, *Cylindroleberis mariae*, is a nektobenthic representative of *Cylindroleberid* myodocop. It displays nocturnal upward migrations (Macquart-Moulin, 1999; Fenwick, 1984) and rests during the daytime at the sea bottom where many species inhabit burrows or nests built with sand particles and phytodetritus (Cohen, 1982; Smith and Horne, 2002). Our approach was based on a combination of anatomical, physiological and behavioural analyses to determine the oxygenation strategy of this species.

Materials and methods

Experiments were performed from February to March 2002 and from June to August 2003 on a total of 80 *C. mariae* (myodocopid ostracods Baird 1850; also known as *Asterope mariae* Moore, 1961). All specimens (adults, size ranging from 1.5–2.0 mm) were collected by dredge locally in the Bay of Arcachon, SW France. Animals were acclimated in the laboratory for at least one month before experiments began (Massabuau, 2001) and remained in the experimental set-ups for 1–6 weeks. As no significant mortality and statistical difference was observed as a function of experimental duration and date, all data are presented together. Note that, in our experimental conditions, it illustrates the stability of our procedure and observations. As a whole, a total of about 250 h of observation was performed.

Morphofunctional anatomy

The study was performed on three *C. mariae* measuring 1.7, 1.8 and 2.0 mm. Whole animals were immersed in a fixative for electron microscopy (6% glutaraldehyde buffered with 0.4 mol l⁻¹ sodium cacodylate, pH 7.4, osmotic pressure 1100 mosmol l⁻¹) for 12 h at 4°C and subsequently rinsed in cacodylate buffer (0.4 mol l⁻¹, NaCl 4%). They were embedded separately in Araldite. Serial sections were performed with a Reichert automatic ultra-microtome (Depew, NY, USA). The observations were measured on enlarged pictures (semi-thin preparations) after visual inspection using a microscope LEICA TCS 4D.

Maintenance conditions

The animals, together with their natural sediment and phytodetritus, were placed in an aquarium with a running flow system in a dark thermostated room set either at 10 or 18°C (Aquarium size: L, 50 cm; W, 50 cm; H, 50 cm). The aquaria were all supplied with seawater from the bay of Arcachon (water $P_{O_2} \approx 20$ –21 kPa; water pH ≈ 7.8 ; salinity ≈ 28 –32‰). Considering the animal size and the amount of organic material and microfauna naturally present in the sediment, no external food was added. When required, specimens were isolated on binocular microscope before experiments. To minimise external disturbances, experimental tanks were isolated from laboratory vibrations with anti-vibrating benches.

Physiological analysis of ventilatory and circulatory activity by video recording

We analysed the myodocopid ostracod ventilatory system of animals exposed to various steady water P_{O_2} conditions at 10°C by visual inspection after or during video recording activity. All video observations were achieved during daytime (i.e. between 9 am and 5 pm) under dim light by using infrared light ($\lambda = 880$ nm) to limit animal disturbance. Recordings were performed by using an X-Y driven Leitz MZ12 binocular microscope (Oberkochen, Germany) equipped with a B/W Ikegami camera (CDD Camera, ICD42B; Maywood, USA). Data were displayed on a Sony TV monitor (HR Trinitron PVM 1453MD; Tokyo, Japan). They could be either analysed on line and/or, stored on a JVC tape recorder (S-VHS, HRS75000MS; Tokyo, Japan) or a Panasonic tape recorder (VHS, NV/SD45; Osaka, Japan). As animals were mostly moving, no attempt was made to use any automatic frequency counting device.

Experimental procedure

One week before experimentation started (the systematic acclimation period before any experiment), myodocops were transferred to an experimental micro-aquarium (Fig. 1A,B; volume 1.2 ml; L, 20 mm; W, 3 mm; H, 20 mm; water renewal rate 60–100 μ l min⁻¹). It was hand-made with a microscopic slide fixed by using SYLGARD (Dow Corning, Michigan, USA) on a laboratory made thermostated glass plate (10×6×0.5 cm). It was equipped with muddy sand and phytodetritus from the Bay of Arcachon to mimic a 'natural-like' environment in which animals could move freely, dig and hide. This aquarium was part of a 1 l closed re-circulatory system with constant entry and exit levels. It was set at 10±0.1°C for all experiments by means of a laboratory-constructed thermoelectric device. During experiments, P_{O_2} varied from 2–40 kPa (27–540 μ mol l⁻¹ or 0.9–17.3 mg l⁻¹). The CO₂ partial pressure (P_{CO_2}) was maintained at 0.1 kPa, a value typical of water P_{CO_2} in air-equilibrated environments. The gas mixtures bubbled through the reservoir of seawater feeding bottles, which was connected to the aquarium by means of glass tubes to avoid gas leaks. The N₂/O₂/CO₂ gas mixture was obtained *via* mass flow controllers (Tylan General, model FC-260; San Diego,

CA, USA) driven by a laboratory-constructed programmable control unit.

Different subtypes of experiments were performed at 10°C in this set-up: analysis of reference ventilatory pattern in normoxia; ventilatory and cardiac responses to 2–15 h exposure periods at various O_2 partial pressures ranging from

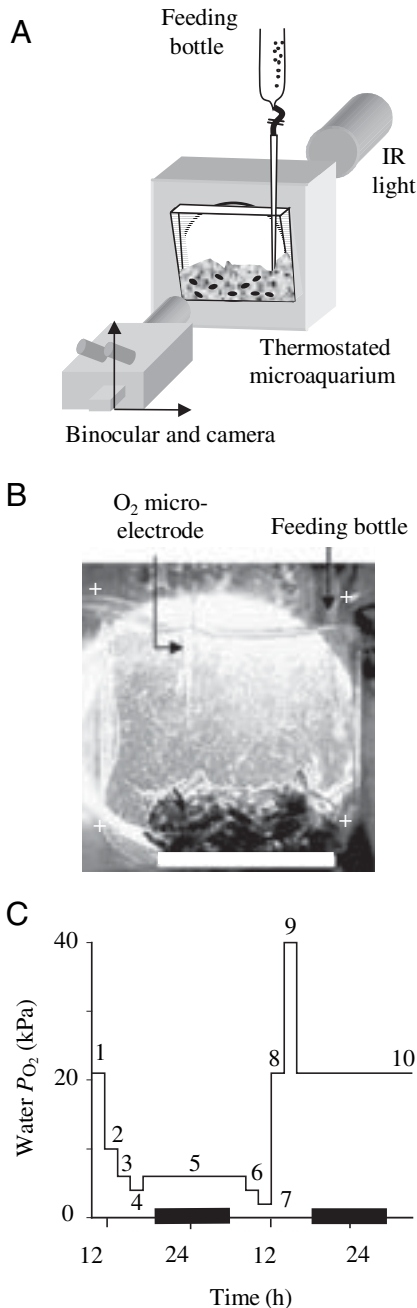


Fig. 1. (A) Experimental set-up for ventilatory analysis by video recording. Animals were free ranging in a vertical layer of natural sediment, cardiac and ventilatory activities were measured by visual inspection through the animals. Analyses were performed under dim light by means of infra-red (IR) camera and micro-spotlight (see text for details). (B) Mini-aquaria with myodocop nest. Scale bar, 1 cm. (C) Experimental procedure of short-term exposures at various oxygenations numbered from 1 to 10.

40 to 2 kPa; respiratory adaptation to 3 day exposure periods at 4 kPa.

Short-term adaptation ability at various oxygenation levels

These experiments were done on a group of 12 animals from the Bay of Arcachon, which was exposed to 10 plateau levels of different water P_{O_2} presented in the following order: ≈ 21 (Reference), 10, 6, 4, 6, 4, 2, 21 (Recovery 1), 40 kPa and 21 kPa (Recovery 2; Fig. 1C). The duration of exposure for each oxygen level was ranging from 2 to 15 h, with the exception of the reference normoxic condition that lasted 7 days. Ventilatory frequencies within ventilatory bouts (min^{-1}) and cardiac frequencies (min^{-1}) were measured during the last 30 min of exposure time. Each animal was identified based on location in the aquarium, size and shell marks to avoid replicate analysis on the same individuals.

Three-day exposure periods at water $P_{O_2}=21$ and 4 kPa

The analysis of reference ventilatory pattern in normoxia (21 kPa, $282 \mu\text{mol l}^{-1}$) and 3 day exposure under hypoxia, 4 kPa ($53 \mu\text{mol l}^{-1}$), was performed in March 2002 on one group of seven animals. After acclimation, myodocops were first studied in reference normoxic conditions (21 kPa) during 3 days in the mini-aquarium, then under hypoxia during 3 days ($P_{O_2}=4$ kPa, hypoxic test) and finally in normoxia after 2 days of recovery. When the analysis started, the experiment consisted of focussing on an individualized specimen and to study it during a 1 h period. Thus, for each animal, its ventilatory pattern was described during the reference days 1, 2 or 3 and the test days 4, 5 or 6. For each animal, the percentage of active ventilation during the studied hour (hourly duration, %), the mean ventilatory bout duration (min^{-1}), the bout number (h^{-1}), the ventilatory frequency within bouts (min^{-1}) and the cardiac frequency (min^{-1}) were determined. As no significant difference was observed between animals (paired *t*-test), all data were pooled together for each water P_{O_2} . Consequently, comparisons were performed on paired analysis.

Behavioural regulation of organism oxygenation status during the diurnal rhythm

Many myodocops exhibit a clear diurnal activity rhythm (they are active at night and resting in nests during daytime, Macquart-Moulin, 1999; Smith and Horne, 2002) whereas the above analyses were essentially performed during daytime. To get more insights into the organism's oxygenation strategy at various activity levels, we thus turned to an analysis of (1) activity pattern and (2) oxygenation status in nests.

Diurnal rhythm of activity in *C. mariae*

The analysis was performed on 50 specimens of *C. mariae* (measuring 1.9 ± 0.1 mm) in August 2003, following a 15 day acclimation period in the laboratory. The temperature in the room was set at 18°C to enhance oxidative metabolism and oxygen dependency by comparison to the above experiment that were performed at 10°C. After being collected, animals were placed in a glass aquarium (10×5×30 cm, L×I×h)

whose bottom was covered by a natural substrate (sand, mud and phytodetritus; thickness, 1 cm). The acclimation period was 7 days. The aquarium was exposed to natural day light cycles and, to permit nocturnal camera recording, an infrared floodlamp ($\lambda=870$ nm) was added. The floodlamp was facing the camera (camera Watec WAT-902H equipped with a macro zoom lens, Computar MLH-10X) to allow animal counting at night and it was continuously switched on. A total of 10 diurnal activity rhythms were recorded. One picture was caught per second by driving the videocamera with a PC (software, PVR Perception player; Enfield, UK). On each picture, the total number of animals present in the water column was then determined. The activity index we derived (expressed as arbitrary unit, a.u.) was the number of animals present in the water column during a 30 min observation period.

Oxygenation status in myodocops nests

To characterize the partial pressure of oxygen into a myodocop nest, 15 *C. mariae* were placed in a mini-aquarium (Fig. 1B) during one week. The aquarium was perfused with normoxic–normocapnic water and O_2 -profiles ($N=5$) were measured with an O_2 polarographic microelectrode (UNISENSE Microsensors) driven with a PRIOR micromanipulator (steps, 0.2 mm). The microelectrode was impaled in the central part of the nest, close to the animals.

Statistical analysis

Values are reported as mean values ± 1 standard error of the mean (S.E.M.) or 1 standard deviation (S.D.). Differences were evaluated using a Mann-Whitney *U*-test, a two-tailed Student's *t*-test, a Fisher test and/or analysis of variance (ANOVA). $P < 0.05$ was taken as the fiducial limit of significance.

Results

Morphofunctional background and general findings

Fig. 2A,B presents the general morphology of *C. mariae*. Fig. 2B (left valve not shown) shows the position of well-developed scaphognathites and a large heart (Fig. 2C), located in dorsal position. The scaphognathites, or ventilatory plates, are paired appendages, which are beating rhythmically to bring water currents between valves, in the domiciliar cavity. Water circulates from the anterior to the posterior part of the animal, along the animal soft body and at gill level. Interestingly, the observed ventilatory movements were closely analogous to what is recorded in green crabs (*Carcinus maenas*, Hughes et al., 1969) or crayfish (*Astacus leptodactylus*, Massabuau, 1983). In *C. mariae*, scaphognathites could work independently with a main tendency to operate in synchrony. Interestingly, opposition phase and unilateral ventilatory arrest were occasionally observed. As shown in Fig. 2D and E, large gills are present and their total number is seven.

These gills consist in a set of integumental lamellae overlapping each other as in a wide-open book. Gill cross-section reveals that, at mid level in the gill basket, the mean lamellae thickness was $17.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ (mean ± 1 S.E.M.; $N=6-7$ measurements per individual; three individuals). As shown in Fig. 2D and E, numerous lacunae were present. The mean diffusion distance from water to hemolymph was $3.8 \pm 0.7 \mu\text{m}$ ($N=12-14$ measurements per individual). Note that in the same specimen, the maximum diffusion distance between water and soft-body core was ranging from 150–300 μm .

Characterisation of the ventilatory pattern at various P_{O_2} levels

In resting *C. mariae*, a typical ventilatory pattern in air-equilibrated water ($P_{O_2}=21$ kPa) was characterized by

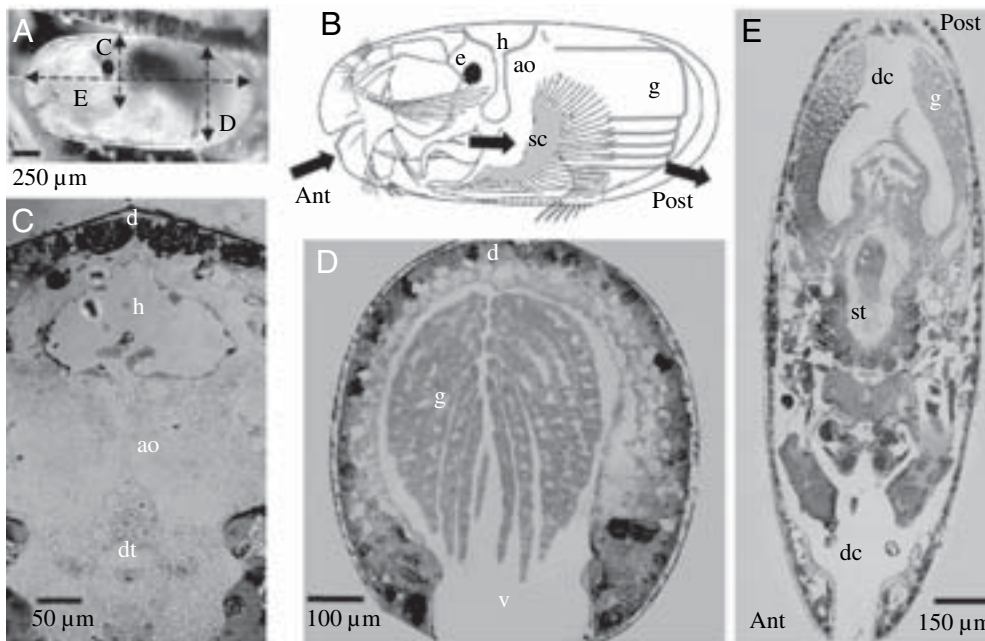


Fig. 2. Morphofunctional anatomy of *C. mariae*, myodocopid ostracod. (A) *In situ* picture in the experimental micro-aquarium. Dashed lines C, D and E indicate section planes for Fig. 2C–E. (B) Schematic drawing, left valve not shown, illustrating the ventilatory flow pattern (arrows) through the animal. The inspired water enters from the anterior aspect and superfusates the soft body (inspired from Cannon, 1933). (C) Cross section through the heart. (D) Cross section through the gills. (E) Longitudinal section showing the seven pairs of gills. ant, anterior; ao, aorta; d, dorsal; dc, domiciliar cavity; dt, digestive tract; e, eyes; g, gills; h, heart; post, posterior; sc, scaphognathite; st, stomach; v, ventral.

spontaneous switch from active ventilation to transient pauses (Fig. 3). Interestingly, a continuous ventilatory activity was occasionally observed during at least 1 h periods (2/7 studied animals) and the longer pause we recorded was 8 min. Note finally, that either scaphognathite could work alone although this was rarely observed. The mean ventilatory bout number was 3 h⁻¹ (minimum–maximum, 1–8 h⁻¹) and the total ventilatory duration per hour varied from 31–60 min. During active ventilation periods, called ventilatory bouts, the mean-recorded ventilatory frequency was ≈90 min⁻¹ (see Table 1; minimum 30 min⁻¹; maximum 168 min⁻¹). Cardiac pauses were never observed and the mean cardiac frequency was ≈40 min⁻¹ (minimum 38 min⁻¹; maximum 54 min⁻¹, Table 1).

The existence of ventilatory and/or circulatory regulatory mechanisms was tested by exposing animals to various water oxygenation levels during exposure periods ranging from 2–15 h (Fig. 1C). The result of our experiments is presented in Fig. 4. The striking observation was that, when the frequencies under hypoxic (2 < P_{O₂} < 10 kPa) and hyperoxic (P_{O₂} = 40 kPa) conditions were compared with normoxia during reference and recovery conditions (P_{O₂} = 20.5–21.5 kPa), no change of ventilatory and cardiac frequency could be noticed (Fig. 4 upper panels). Specifically, in hypoxia, no hyperventilatory response was recorded. The relationship between the ventilatory frequency, f_R and water P_{O₂} was: f_R = 0.028 water P_{O₂} + 96.08 (r² = 0.00121, P < 0.76). The relationship between the cardiac frequency, f_H, and water P_{O₂} was: f_H = 0.092 water P_{O₂} + 54.75 (r² = 0.0072, P < 0.89; Fig. 4 lower panels). Note finally that despite a 23 h exposure at P_{O₂} < 6 kPa, no recovery impairment was discernible. Indeed, this mid-term hypoxic exposure did not lead to any statistical difference between recovery and reference frequencies for both ventilatory (ANOVA, F_{7,116} = 0.99, P = 0.44) and cardiac (ANOVA, F_{7,57} = 1.58, P = 0.16) aspects. To reinforce this observation, especially facing hypoxic challenge, we then exposed the *Cylindroleberis* to water P_{O₂} = 4 kPa during 3 days and we analysed all characteristics of the corresponding respiratory activity. The results are presented in Table 1. Clearly, the mean number of bouts, bout duration, hourly duration of ventilation and ventilatory frequency within bout per hour did not significantly change as a function P_{O₂} (no different values, paired *t*-tests). Fig. 5 extends on this theme by comparing the distribution frequencies of these parameters. Without a doubt, both ventilatory patterns were similar. Thus, even during long-term exposure to hypoxia, no significant ventilatory and circulatory adaptability could be observed in *C. mariae*. Consequently, it strongly suggested that at constant temperature and metabolic level, the P_{O₂} value in their milieu intérieur should vary passively – as a dependent variable – following changes of P_{O₂} in the inspired water.

Numerous myodocops are reported to emerge at dusk from the sediment and swim in the water column, i.e. in air-equilibrated water. By contrast, during daytime *Cylindroleberis* rest in burrows or nests on the sea bottom. To analyse if this particular diurnal behaviour applies to *C. mariae* and whether it participates to a rhythm of tissue oxygenation, we then turned to a behavioural study of animals free to move in a water column

Table 1. Characterisation of ventilatory and cardiac activity

	Bout					Bout						
	N	Mean duration (min)	Hourly duration (%)	f _R (min ⁻¹)	f _H (min ⁻¹)	Apnea (%)	Number (h ⁻¹)	Mean duration (min)	Hourly duration (%)	f _R (min ⁻¹)	f _H (min ⁻¹)	Apnea (%)
Myodocopids		21 kPa						4 kPa				
<i>C. mariae</i>	7	31±8	88±7	93±3	42±4	0	3±1	36±9	90±7	72±10	46±2	0
P*	–	–	–	–	–	–	0.73*	0.88*	0.88*	0.94*	–	–
Podocopids		21 kPa						3 kPa				
Five species	31	18±6	61±5	55±10	–	26	8±4	30±12	69±13	48±11	–	42
P	0.03	0.01	0.03	0.02	–	–	0.01	0.67	0.10	0.03	–	–

Characterisation of ventilatory and cardiac activity during a 3 day exposure period at water P_{O₂} = 21 and 3 or 4 kPa in the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae* (upper) and comparison with podocopid ostracods (lower; from Corbari et al., 2004). Note the absence of significant respiratory adaptation under hypoxia in both ostracod groups (see text for other details). Number, number of ventilatory bouts per hour; mean duration, mean bout duration per hour; hourly duration, total duration of active ventilation per hour; f_R, respiratory frequency within bouts; f_H, cardiac frequency. Apnea, percentage of animals presenting a total absence of ventilatory activity during the 1 h studied period. All data expressed as mean ± 1 s.e.m., N = number of studied animals. P*, P values for comparisons between hypoxia and normoxia in *C. mariae*; P, P values for comparisons between normoxic- and hypoxic-respiratory activities in podocopid ostracods and *C. mariae* (myodocopid ostracod).

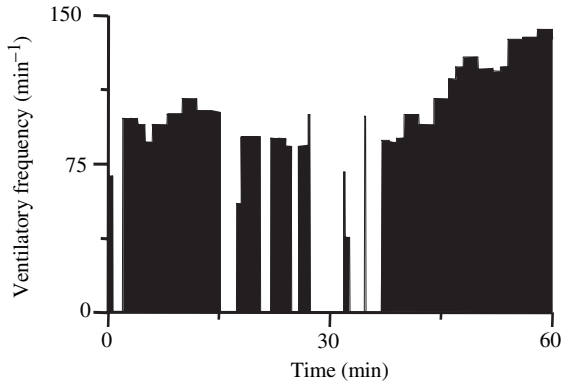


Fig. 3. Typical ventilatory pattern (f_R , ventilatory frequency, min^{-1}) in one *C. mariae* specimen during 1 h observation period at $P_{\text{O}_2}=21$ kPa. Ventilatory activity is characterized by alternations of ventilatory bouts and pauses.

and build nests. Fig. 6 demonstrates first the existence of a very marked daily rhythm of activity in this species. It summarizes the result obtained during 10 daily cycles through a summer season. Clearly, no specimen (0/50) was recorded in the water column during daytime while it was only at night that animals were active. At night, maximum swimming velocities of 20 mm s^{-1} were recorded, while during daytime, in the sediment, it was only $\approx 0.7 \text{ mm s}^{-1}$ as animals were mostly inactive in the nests. Fig. 7A1–A4 illustrate the different phases of a nest building. On Fig. 7A2, a specimen is shown surrounded by filaments of mucus-like slime and Fig. 7A3 shows two animals gliding into a nest. Finally, Fig. 7A4 illustrates the density that can be reached within a nest in which 15 individuals were observed. Fig. 7B presents an oxygen profile performed during daytime in this nest. Clearly, the nest water was confined as illustrated by the measurements of hypoxic P_{O_2} values ranging from 8–10 kPa. Thus depending on their activity level, *Cylindroleberis* are either rebreathing a

hypoxic and hypercapnic water in nests when there are resting during daytime, or breathing a normoxic–normocapnic water, when they are actively swimming in the water column at night.

Discussion

C. mariae are cylindrolerid ostracods already existing 425 million years ago and equipped with scaphognathites, gills and cardiovascular system. Present data demonstrate that they are unable to adapt their ventilatory and circulatory activity to face water oxygenation changes. Thus, the oxygenation status of their internal milieu is closely dependent on the oxygenation of their external environment. During the diurnal rhythm, the animals positioned themselves in hypoxic water when they are resting, and in normoxic water when they are active. This is the result of a behavioural and social strategy as groups of *C. mariae* build nests where they are buried during daytime, rebreathing in a confined environment.

Comparison with previous data

To date very little data are available concerning respiratory properties and evolution in early crustaceans and arthropods although the evolution of their cardiovascular system has been reviewed by Wilkens (1999). Horseshoe crabs, *Limulus polyphemus*, are certainly an exception (Watson, 1980; Mangum and Ricci, 1989). They probably existed since the Silurian period (410–440 million years ago) and, interestingly, as reported here for myodocops, their ventilatory pattern has also been reported as highly variable. Moreover, an absence of ventilatory rate change in response to oxygenation changes has been reported (Mangum and Ricci, 1989) which fits quite well with present observation in *Cylindroleberis*. In podocopid ostracods (Corbari et al., 2004), the ventilatory pattern is also highly variable, but numerous statistically significant differences exist when bout characteristics – number, mean, hourly duration and ventilatory frequencies – are directly

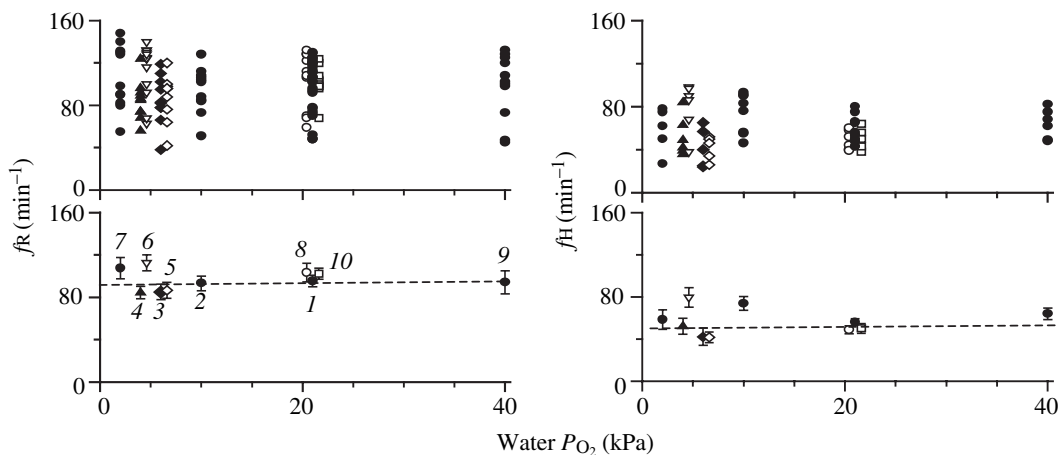


Fig. 4. *C. mariae* ventilatory and cardiac responses to 2–16 h exposure periods at various oxygenation levels. Upper panels: respiratory frequencies within bouts, f_R (min^{-1}) and cardiac frequencies, f_H (min^{-1}) illustrating inter-individual variability. One symbol per oxygenation level and $N=12$ animals per studied level. Lower panels, mean f_R and f_H relationship versus water P_{O_2} ($\pm 1 \text{ S.E.M.}$). No significant trend was observed as a function of P_{O_2} . Italics refer to the protocol shown in Fig. 1C.

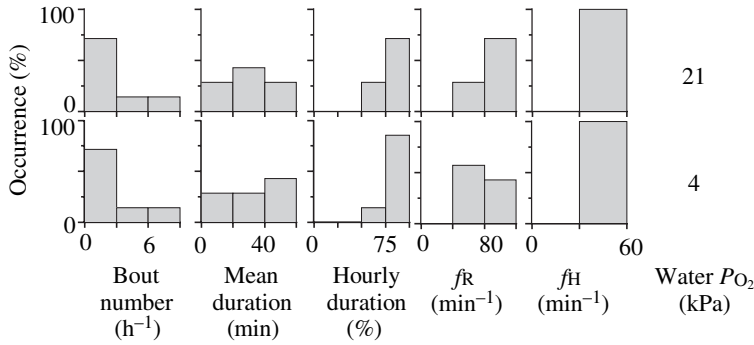


Fig. 5. Frequency distribution of ventilatory bout number, ventilatory mean duration, ventilatory hourly duration, respiratory frequency within bout (f_R) and cardiac frequency (f_H) during 3 day exposure periods at water P_{O_2} =21 and 4 kPa (mean values in Table 1). Note the absence of any ventilatory and cardiac change ($N=7$ animals).

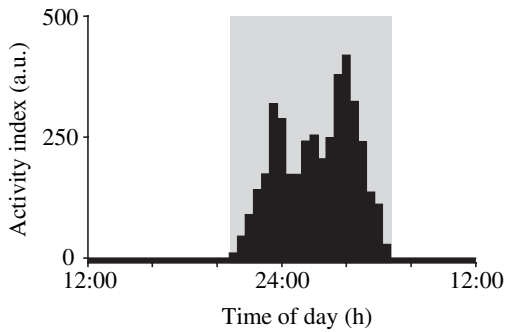


Fig. 6. Diurnal rhythm of activity in *C. mariae* (10 cycles analysed). *C. mariae* was only actively swimming in the water column from 22:00–07:00. Grey shadow, from sunset to sunrise; August 2003; 50 animals in the aquarium.

compared (see Table 1). However, a major difference is certainly that one never observed ventilatory arrest, or apnoea, longer than 8 min in *Cylindroleberis* while it was quite frequent in podocopids as they can stop breathing for periods >1 h. This ability in podocopids could be associated to their activity and metabolic level. Indeed, the velocity of podocopids in the sediment is slower than in *Cylindroleberis* ($1\text{--}2\text{ mm min}^{-1}$ vs 40 mm min^{-1} ; podocopid values from Corbari et al., 2004). The ability of *Cylindroleberis* to build nests was already reported by Cannon (1933). He noted that when a specimen is placed in a dish of clean seawater without any mud, in a minute or two, it is found to be surrounded by a mass of mucus like slime. Fage (1933) reported that *Cylindroleberis* can stick together sand particles by using secretory glands and stay in one centimetre long nests for days or weeks under laboratory conditions. Finally, Vannier and Abe (1993) reported that another member of the myodocopid ostracod family, the Cypridinidae *Vargula hilgendorffii* can also stay within the upper layers in the sediment and that they also produce some sticky substance that could be a kind of slime. Thus, in myodocops, nest building appears as a very general behaviour.

Extensive studies on the respiratory physiology in another type of millimetre-sized crustacean, *Daphnia magna*, were already performed. *Daphnia* are equipped with a cardiovascular system but no ventilatory plates. They are planktonic filter feeders and ventilate their filtering chamber with thoracic appendages. In *Daphnia*, the existence of both cardiocirculatory (Paul et al., 1997) and ventilatory responses (Pirow and Buchen, 2004) were reported following changes in water oxygenation levels. In addition, there is haemoglobin in *Daphnia* (Kobayashi and Hoshi, 1984) and, although Fox

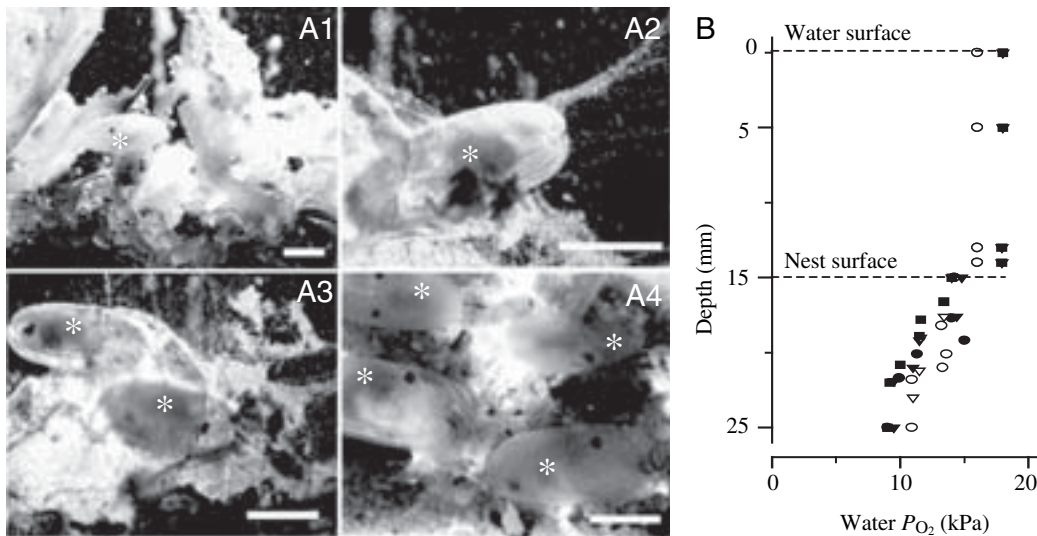


Fig. 7. *In situ* pictures of nesting behaviour in *C. mariae* and nest oxygenation status. (A1) First steps of nest building. (A2) Production of mucus-like slime. (A3) Two individuals entering in a nest. (A4) Illustration of animal density in a nest during daytime. (B) Water O_2 -profile in the nest shown in A1–A4. Asterisks indicate individuals. Scale bars, 1 mm.

(1957) reported that it also occurs in *Cypria* and *Pseudocypria* (freshwater ostracods), the question certainly requires further investigation (Hourdez et al., 2000; Weber and Vinogradov, 2001). Again, any explanation about these differences remains highly speculative but it is worth noting that *Daphnia* were only reported from the Permian (250–300 million years ago; Schram, 1982). Respiratory control mechanisms could have logically evolved from Cambrian to Permian.

The respiratory control system in ostracods

In ostracods, the rhythmic movement of the scaphognathites is controlled by four muscles innervated by nerves originating from the circumoesophageal ganglia (Hartmann, 1967). Although of primitive aspect by comparison to decapod crustaceans, the central nervous system is already well-differentiated as a cerebrum, a circumoesophageal ring, a chain of ventral ganglia and a network of motor nerves connecting to various muscles were described (Rome, 1947; Hartmann, 1967). Remarkably, in present decapods, the scaphognathite beating movement is fairly similar to what is observed in mydocops (present data) and podocops (Corbari et al., 2004). In crabs like *Carcinus maenas*, these movements are driven by a set of five levator and five depressor muscles (Young, 1975), innervated by motor neurones arising from a central pattern generator (CPG; Simmers and Bush, 1980). By analogy, this strongly suggests that a respiratory CPG also exists in mydocops (Harris-Warrick et al., 1992; Marder and Bucher, 2001). Indeed, there is now considerable evidence from a variety of different invertebrates that the motor patterns underlying rhythmic behaviour are essentially determined by CPG within the central nervous system (Harris-Warrick et al., 1992; Marder and Bucher, 2001). This would be coherent with the demonstration that the heartbeat in *Vargula hilgendorffii* is neurogenic and driven by a CPG located in a cardiac ganglion. Interestingly, the *Vargula* cardiac CPG is composed of a single neuron (Ando et al., 2001; Ishii and Yamagishi, 2002) when in many decapods, it is composed of nine neurons. It illustrates the level of complexity that could be expected for an early ventilatory CPG.

Ventilatory pattern and evolution of central nervous mechanisms controlling ventilatory activity in crustaceans

In ostracods, the ventilated water flows backwards, i.e. from the anterior to the posterior aspects of the animals. Remarkably, in present decapod Crustaceans, the predominant mode is opposite: the scaphognathites draw water forwards *via* openings located at the base of the walking limbs and chelae and expel it through the hydrostomes, that are excurrent openings located on the anterior part, below antennae. Occasionally, the system reversed the direction of ventilatory currents and water is inhaled *via* the anterior aspect (Arudpragasam and Naylor, 1964; Hughes et al., 1969). Backward pumping (alternatively called, reversals) were only reported to be a predominant mode (1), in the crabs *Corystes cassivelaunus*, which normally live buried in sand (Arudpragasam and Naylor, 1966) and (2) in the shore crabs

C. maenas, which, when exposed to progressive hypoxia in shallow water, partially emerge into air and aerate their branchial cavities by reversing the direction of their irrigation (Taylor et al., 1973). Simmers and Bush (1983) studied the neuronal basis of bimodal beating in *Carcinus*. They reported that a single pattern-generating network produces the motor programmes appropriate for both forward and backward beating. Switching between beating modes originates from selective inputs, which either inhibit one or the other pattern.

Thus, in decapods, a single ventilatory CPG produces two different motor patterns (forward and backward) when in ostracods, the backward motor pattern is the only observed ventilatory mode. What could be the origin of such an apparent divergence? Is it the result of evolution? Decapods have a fossil record dating back to the Permian (286–245 million years ago; Benton, 1993) when ostracods are dated from the early Paleozoic (400–500 million years ago). We propose then that the backward ventilatory pattern could have preceded the forward pattern. In *Carcinus*, Arudpragasam and Naylor (1964) shows that during backward flow, water only irrigates the upper surface of the posterior gills, which is evidently of limited efficiency. On the contrary, during forward flow, water irrigates most of the gill lamellae. Finally and importantly, when crustaceans are facing hypoxic challenges, an increase of forward flow is the major adaptation to maintain the oxygen consumption and blood oxygenation status (Taylor, 1982; McMahon, 2001). The above observations could then explain why to our knowledge no large crustacean is currently relying on backward ventilatory activity: in large crustaceans facing an hypoxic stress or an increased O₂-demand, forward flow is of higher adaptive value as it allows a better gill ventilation efficiency than the backward flow. Regarding *C. cassivelaunus* (Arudpragasam and Naylor, 1966), which appears as an exception in this scheme, one must keep in mind that it is normally living in sand. The causal explanation for their extensive use of a backward mode is likely that a forward flowing current could carry sand into their gill chambers.

To summarize, following the above hypothesis regarding the genesis of ventilatory motor pattern generation in crustaceans, we propose that the backward ventilatory mode should be considered as the early ventilatory mode and the forward mode, as a more recent acquisition, appearing later during evolution. It certainly allowed an increased O₂-uptake ability and, thus, possibly facilitated the evolution of larger animals. In this view, the backward mode should be considered as a vestigial motor pattern in decapods, having an accessory role in gill chamber cleaning.

The strategy of tissue oxygenation in Cylindroleberids

In the present report we show an absence of ventilatory and circulatory adaptation ability facing water oxygenation changes (Fig. 4). Nevertheless, the demonstration of a different positioning, depending on the level of activity strongly suggests that Cylindroleberids adjust their tissue oxygenation level at set values. Indeed, this observation recalls previously described behaviour in the crayfish *Astacus leptodactylus*

during the circadian rhythm of activity (Sakakibara et al., 1987; Forgue et al., 2001) as well as numerous data on metabolic modulation by O₂ and CO₂ (Busa and Nucitelli, 1984; Hochachka and Somero, 1984; Malan, 1993; Guppy and Withers, 1999; St-Pierre et al., 2000). In *A. leptodactylus*, it has been shown that changes of activity at night compared with daytime are associated with changes in arterial blood P_{O₂} and P_{CO₂}. These changes are performed by ventilatory adjustments that ensure the autonomous homeostasis of the internal milieu, in terms of O₂ (Massabuau et al., 1984) as well as to the blood and tissue acid–base balance regulation. In *Cylindroleberids*, the ability of ventilatory adjustments obviously did not exist, but a social behaviour could play this role on the blood and tissue gas composition as the water P_{O₂} in a nest is hypoxic and the water P_{CO₂} must be hypercapnic, due to rebreathing in a confined space (Fig. 7). Interestingly, when the crayfish *A. leptodactylus* (Forgue et al., 2001) is experimentally exposed to a water P_{O₂} of 10 kPa (remember that the measured value in the *Cylindroleberid* nest was very close, 8 kPa) during a 24 h exposure period, it remains inactive and stops exhibiting a circadian rhythm of activity. By analogy, this depression effect in the crayfish, is thus a first indication that the oxygenation status found in the *Cylindroleberid* nests could participate to the shaping of a resting behaviour and that, in this way, these animals do possess an O₂-chemosensitivity. In Crustacea, the existence of three types of hypoxia-induced metabolic rate depressions were proposed (Forgue et al., 2001). The first one is an environmentally induced ‘deep’ hypoxia during which the water P_{O₂} is so low ($\leq 3\text{--}4$ kPa), that the gas-exchange processes are limited and the resting O₂-consumption cannot be maintained. It imposes a strict limit to the oxidative metabolism and forces its depression. Under these conditions, which we suggest are extreme, any increase of activity relies on anaerobiosis. The second type is observed in ‘mild’ hypoxic environments (water P_{O₂} $\approx 6\text{--}10$ kPa). Under these conditions, the animals spontaneously limit their activity in a medium in which excessive exercise could become O₂-limited. Finally, the third type is a behaviourally self-imposed blood hypoxia by hypoventilation, which allows a limited O₂-metabolism even in normoxic or hyperoxic environments. In the crayfish, it limits the aerobic scope at rest during daytime and forms part of the normal physiological repertoire of the animal compartment. Forgue et al. (2001) demonstrated that it did not limit the global animal’s oxidative metabolism but typically the locomotor muscle O₂-consumption. It has been proposed to participate to the shaping of the resting behaviour of crayfish *via* direct action on the locomotor muscles themselves. We demonstrate in this report that, contrary to decapods, the ostracods are unable to control directly the oxygenation status of their internal milieu as they cannot adjust their ventilatory activity according to P_{O₂} (see Fig. 4). We suggest that the behaviour of *Cylindroleberids* breathing in the confined environment of a nest (as reported here) corresponds to a strategy of metabolic depression that underpins the daytime *Cylindroleberid* resting behaviour.

As stated above, in *Astacus leptodactylus*, a circadian

rhythm of acid–base balance in the internal environment was reported (Sakakibara et al., 1987). The animal’s blood is hypercapnic during daytime when animals are resting, and hypocapnic at night when animals are active. Arguments in favour of a role of pH in changing the activity of metabolic pathways were largely developed and it is agreed that acidification is associated with a lowering of metabolic rate while alkalisation is linked to its enhancement (Busa and Nucitelli, 1984; Bickler, 1986; Malan, 1993). In addition, Malan (1985) proposed that changing blood P_{CO₂} is a fast and economical means to change cellular acid–base balance and Forgue et al. (2001) reported that increasing P_{CO₂} favours metabolic depression in the locomotor muscle of the crayfish. Thus, the modulation of metabolic activity by O₂ and CO₂ has been extensively studied. The mechanisms described above offer a guideline strongly suggesting that in *Cylindroleberids*, and possibly in other myodocopid ostracods, self-imposed changes of water gas composition could contribute to the shaping of the diurnal behaviour rhythm. These physiological mechanisms should depress their metabolic activity during daytime and help them to reach a kind of torpor.

In conclusion, *Cylindroleberids* are unable to regulate the oxygenation status in their internal environment autonomously by respiratory adjustments. They build nests in which they are resting during daytime, certainly to protect themselves against predators, but an additional consequence is that they are breathing under hypoxic and hypercapnic conditions. By contrast, when they are active in the water column, they inspire in a normoxic and normocapnic environment. The net result is that they experience changes in respiratory conditions, which are similar to what have been extensively described in the literature on metabolic modulation by O₂ and CO₂. Consequently, *Cylindroleberids* are early crustaceans illustrating a remarkable stasis since the Paleozoic, both in morphological (Siveter et al., 2003) and physiological terms (present data). Indeed, we illustrate here how a single basic set of principles of respiratory physiology could apply to the behaviour and life history of an animal that has existed over an impressive time scale.

We thank N. Mesmer-Dudons and P. Ciret for their invaluable technical support. Thanks to J. Vannier and J. Simmers for helpful discussions or comments.

References

- Ando, Y., Matsuzaki, O. and Yamagishi, H. (2001). Cardiac nervous system in the ostracod crustacean *Vargula hilgendorffii*. *Zool. Sci.* **18**, 651–658.
- Arudpragasam, K. and Naylor, E. (1964). Gill ventilation and the role of reversed respiratory currents in *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **41**, 299–307.
- Arudpragasam, K. and Naylor, E. (1966). Patterns of gill ventilation in some decapod Crustacea. *J. Zool.* **150**, 401–411.
- Benton, M. (1993). *The Fossil Record 2*, pp.845. London, UK: Chapman and Hall.
- Bickler, P. (1986). Day–night variations in blood and intracellular pH in a lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *J. Comp. Physiol. B* **156**, 853–857.
- Busa, W. and Nucitelli, R. (1984). Metabolic regulation *via* intracellular pH. *Am. J. Physiol.* **246**, R409–R438.
- Cannon, H. (1933). On the feeding mechanism of certain marine Ostracods. *Trans. R. Soc. Edinb.* **57**, 739–764.

- Cohen, A.** (1982). Ostracoda. In *Synopsis and Classification of Living Organisms* (ed. S. Parker), pp. 181-202. New York, USA: McGraw-Hill.
- Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C.** (2004). How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans: the example of the podocopid ostracods. *J. Exp. Biol.* **207**, 4415-4425.
- Fage, L.** (1933). Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banyuls/mer et Concarneau. *Arch. Zool. Exp. Gen.* **76**, 128-143.
- Fenwick, G.** (1984). Life history and population biology of the giant ostracod *Leuroleberis zealandica* (Baird, 1850) (Myodocopida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **77**, 255-289.
- Forgue, J., Legeay, A. and Massabuau, J.-C.** (2001). Is the resting rate of oxygen consumption of locomotor muscles in crustaceans limited by the low blood oxygenation strategy? *J. Exp. Biol.* **204**, 933-940.
- Fox, H.** (1957). Haemoglobin in crustacea. *Nature* **148**, 179.
- Guppy, M. and Withers, P.** (1999). Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.* **74**, 1-40.
- Harris-Warrick, R., Marder, M., Selverston, A. and Moulins, M.** (1992). Dynamic biological networks: the stomatogastric nervous system. Boston, USA: MIT Press.
- Hartmann, G.** (1967). Arthropoda, Crustacea 2. *Bronn's Kl Ordn Tierreichs* **4**, 217-408.
- Hochachka, P. and Somero, G.** (1984). Biochemical Adaptation. In *Mechanism and Process in Physiological Evolution*, pp.480. Princeton, USA: Princeton University Press.
- Horne, D., Cohen, A. and Martens, K.** (2002). Taxonomy, morphology and biology of Quaternary and living Ostracoda. In *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research. Geophysical Monograph*, vol. 131 (ed. J. A. Holmes and A. R. Chivas), pp. 5-36. Washington, USA: American Geophysical Union.
- Hourdez, S., Lamontagne, J., Peterson, P., Weber, R. and Fisher, C.** (2000). Hemoglobin from a deep-sea hydrothermal-vent copepod. *Biol. Bull.* **199**, 95-99.
- Hughes, G., Knights, B. and Scammel, C.** (1969). The distribution of P_{O₂} and hydrostatic pressure changes within the branchial chamber in relation to gill ventilation of the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **5**, 200-203.
- Ishii, Y. and Yamagishi, H.** (2002). Cardiac pacemaker mechanisms in the ostracod crustacean *Vargula hilgendorffii*. *Comp. Biochem. Physiol. A* **133**, 589-594.
- Kobayashi, M. and Hoshi, T.** (1984). Analysis of respiratory role of haemoglobin in *Daphnia magna*. *Zool. Sci.* **1**, 523-532.
- Macquart-Moulin, C.** (1999). Diel vertical migration and endogenous swimming rhythm in *Asterope mariae* (Baird) and *Philomedes interpuncta* (Baird) (Crustacea Ostracoda Cypridinidae). *J. Plankton Res.* **21**, 1891-1910.
- Malan, A.** (1985). Intracellular pH in response to ambient changes: homeostatic or adaptive responses. In *Circulation, Respiration and Metabolism* (ed. R. Gilles), pp. 464-473. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Malan, A.** (1993). pH and metabolic depression in mammalian hibernation. The example of brown adipose tissue. In *Surviving Hypoxia*, pp. 201-214. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Mangum, C. and Ricci, J.** (1989). The influence of temperature on O₂ uptake and transport in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **129**, 243-250.
- Marder, E. and Bucher, D.** (2001). Central pattern generators and the control of rhythmic movements. *Curr. Biol.* **11**, R986-R996.
- Massabuau, J.-C.** (1983). The respiratory system of the crayfish (a gas and ion exchanger). *J. Physiol.* **345**, 15.
- Massabuau, J.-C.** (2001). From low arterial- to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory. *Resp. Physiol.* **128**, 249-261.
- Massabuau, J.-C.** (2003). Primitive, and protective, our cellular oxygenation status? *Mech. Ageing Dev.* **124**, 857-863.
- Massabuau, J.-C., Dejourns, P. and Sakakibara, Y.** (1984). Ventilatory CO₂ drive in the crayfish: influence of oxygen consumption and water oxygenation. *J. Comp. Physiol. B* **154**, 65-72.
- McMahon, B.** (2001). Respiratory and circulatory compensation to hypoxia in crustaceans. *Resp. Physiol.* **128**, 349-364.
- Moore, R.** (1961). Treatise on invertebrate paleontology. In *Geological Society of America*, pp. 442. Kansas, USA: University of Kansas Press.
- Paul, R., Colmorgen, M., Hüller, S., Tyroller, F. and Zinkler, D.** (1997). Circulation and respiratory control in millimetre-sized animals (*Daphnia magna*, *Folsomia candida*) studied by optical methods. *J. Comp. Physiol. B* **167**, 399-408.
- Pirow, R. and Buchen, I.** (2004). The dichotomous oxyregulatory behaviour of the planktonic crustacean *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* **207**, 683-696.
- Rome, D.** (1947). *Herpetocypris reptans* (ostracoda) étude morphologique et histologique. I. Morphologie externe et système nerveux. *La Cellule* **51**, 51-152.
- Sakakibara, Y., Burtin, B. and Massabuau, J.-C.** (1987). Circadian rhythm of extracellular pH in crayfish at different levels of oxygenation. *Resp. Physiol.* **69**, 359-367.
- Schram, F.** (1982). The fossil record and evolution of Crustacea. In *The Biology of Crustacea*, vol. 1 (ed. L. Abele), pp. 93-147. New York, USA: Academic Press.
- Simmers, J. and Bush, B.** (1980). Non-spiking neurones controlling ventilation in crabs. *Brain Res.* **197**, 247-252.
- Simmers, J. and Bush, B.** (1983). Motor programme switching in the ventilatory system of *Carcinus maenas*: the neuronal basis of bimodal scaphognathite beating. *J. Exp. Biol.* **104**, 163-181.
- Siveter, D., Sutton, M., Briggs, D. and Siveter, D.** (2003). An ostracod crustacean with soft parts from the Lower Silurian. *Science* **302**, 1747-1751.
- Smith, A. J. and Horne, D. J.** (2002). Ecology of marine, marginal marine and nonmarine Ostracodes. In *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research. Geophysical Monograph*, vol. 131 (ed. J. A. Holmes and A. R. Chivas), pp. 37-64. Washington, USA: American Geophysical Union.
- St-Pierre, J., Brand, M. and Boutilier, R.** (2000). The effect of metabolic depression on proton leak rate in mitochondria from hibernating frog. *J. Exp. Biol.* **203**, 1469-1476.
- Taylor, E.** (1982). Control and co-ordination of ventilation and circulation in crustaceans: responses to hypoxia and exercise. *J. Exp. Biol.* **100**, 289-320.
- Taylor, E., Butler, P. and Sherlock, P.** (1973). The respiratory and cardiovascular changes associated with the emersion response of *Carcinus maenas* during environmental hypoxia at three different temperatures. *J. Comp. Physiol.* **86**, 95-115.
- Vannier, J. and Abe, K.** (1993). Functional morphology and behaviour of *Vargula hilgendorffii* (Ostracoda, Myodocopida) from Japan: preliminary results from video-recording. *J. Crust. Biol.* **13**, 51-76.
- Vannier, J., Abe, K. and Ikuta, K.** (1996). Gills of cylindroleberidid ostracods exemplified by *Leuroleberis surugaensis* from Japan. *J. Crust. Biol.* **16**, 453-468.
- Watson, W.** (1980). Long-term patterns of gill cleaning, swimming, and ventilation in *Limulus*. *J. Comp. Physiol. B* **141**, 77-85.
- Weber, R. and Vinogradov, N.** (2001). Non-vertebrate haemoglobins: functions and molecular adaptations. *Physiol. Rev.* **81**, 569-627.
- Wilkens, J.** (1999). Evolution of the cardiovascular system in Crustacea. *Am. Zool.* **39**, 199-214.
- Young, R.** (1975). Neuromuscular control of ventilation in the crab *Carcinus maenas*. *J. Comp. Physiol.* **101**, 1-37.

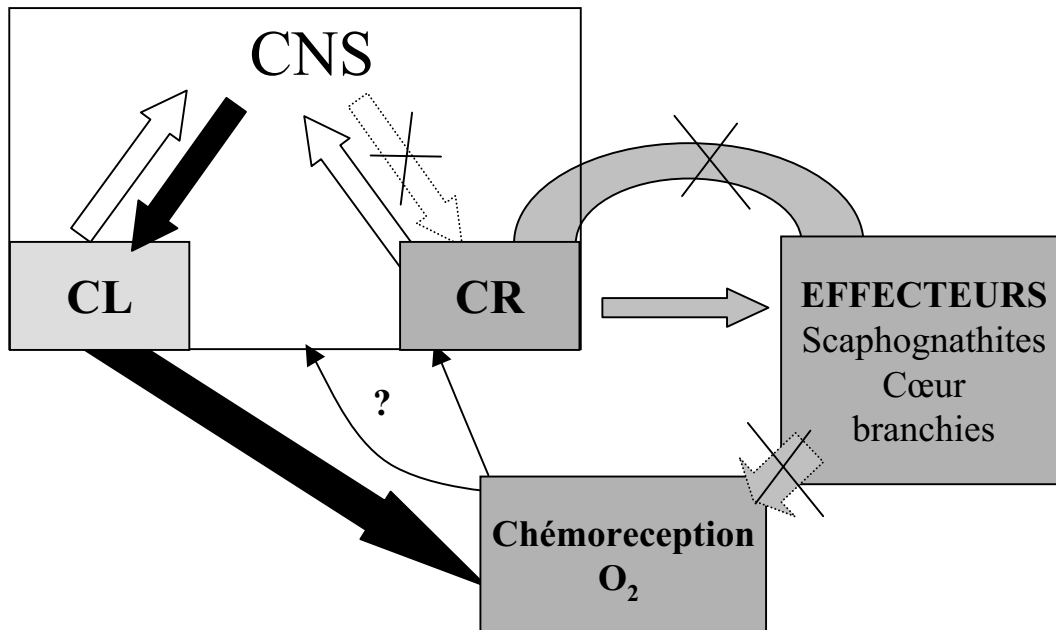


Figure 58 : Schéma de principe de la boucle de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur chez les ostracodes mydocopes. Chez les mydocopes, il n'y a pas de retour nerveux de la chémoreception sensible à l'oxygène sur les centres respiratoires. Au cours du rythme circadien, l'animal passe du positionnement dans des nids hypoxiques et hypercapniques (au repos) à la nage en milieu normoxique-normocapnique. Ces changements sont analogues au processus de régulation du milieu intérieur déjà décrits chez les crustacés décapodes
 CNS, Centres Nerveux Supérieurs; CR, centres respiratoires; CL, centres locomoteurs.

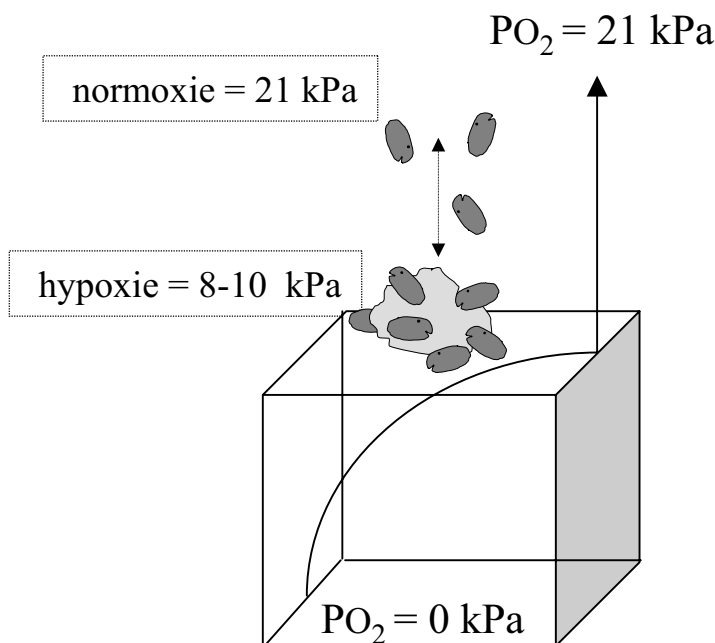


Figure 59: Positionnement des ostracodes mydocopes au cours du rythme circadien d'activité. Au repos, pendant la journée, les animaux se positionnent dans des nids où la pression partielle d'O₂, PO₂, est 8-10 kPa ce qui doit participer à la mise en place d'un état de type torpeur. Pendant l'activité, la nuit, les animaux se retrouvent dans la colonne d'eau, bien oxygénée, ce qui favorise au contraire le flux entrant d'O₂ nécessaire à un métabolisme d'activité.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié dans ce chapitre, les mécanismes de la régulation de l'approvisionnement en oxygène chez des ostracodes myodocopes qui, par opposition avec les ostracodes podocopes, possèdent un échangeur gazeux proche de celui des crustacés décapodes, composé d'effecteurs ventilatoires (scaphognathites), d'un système circulatoire et de branchies. Nous avons plus particulièrement recherché si cette complexification du système des échanges gazeux avait été accompagnée par la mise en place de système de régulation autonome de l'approvisionnement en oxygène, absent chez les podocopes.

Les résultats présentés dans ce chapitre montrent que:

- les ostracodes myodocopes, tout comme les podocopes, sont incapables d'ajuster de manière autonome leur activité ventilatoire et cardiaque afin de maintenir constante l'oxygénation de leur milieu intérieur.

Il n'existe donc pas de retour sensoriel efficace, lié à la valeur de PO_2 dans l'eau, le sang ou les tissus, sur les centres respiratoires et de contrôle par ces centres de la ventilation (*i.e.* les scaphognathites) en fonction de l'oxygénation de l'eau (Fig. 58).

- suivant leur niveau d'activité, les myodocopes se placent dans des conditions où les pressions partielles d' O_2 et de CO_2 sont variables (Fig. 59). Pendant la journée au repos, ils se trouvent dans des nids peu oxygénés ($PO_2 = 8-10$ kPa) et hypercapniques. Pendant leur période d'activité nocturne ils nagent en pleine eau, dans un milieu bien oxygéné ($PO_2 = 21$ kPa) et normocapnique. Ces changements sont analogues au processus de régulation du milieu intérieur déjà décrit chez les crustacés décapodes (Sakakibara et al. 1987 ; Forgue et al. 2001). Chez le crabe, une valeur de PO_2 dans l'eau de 10 kPa limite l'activité motrice. Nous proposons qu'un mécanisme semblable existe chez les myodocopes. Comme chez les crustacés décapodes, ce mécanisme participerait alors à la modulation du métabolisme et du comportement. Ces mécanismes sont classiques chez les animaux vivant en terrier et les hibernants (Malan, 1993).

Par analogie, nos résultats montrent donc qu'il existe déjà chez les myodocopes un rythme circadien associé aux changements d'oxygénation. Ce comportement de modulation du comportement par O_2 et CO_2 , déjà décrit chez les crustacés décapodes, a donc pu exister très tôt dans l'évolution.

Nos résultats illustrent comment la mise en place d'un système respiratoire complexe, peut ne pas être accompagnée par la mise en place des systèmes de régulation physiologique associés.

Chapitre 5

Parvipalpus major,

caprellidé profond épibenthique

Chapitre 5
***Parvipalpus major*, caprellidé profond épibenthique**

INTRODUCTION

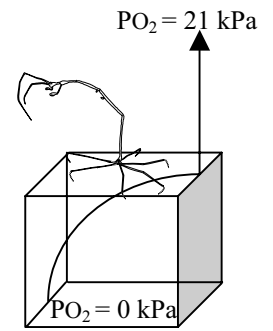
RESULTATS

- * Video- study of the amphipod caprellid *Parvipalpus major* Carausu, 1941.
Morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms
Corbari L, Sorbe J-C and Massabuau J-C (2005) Marine Biology, 146, 363-371

- * Eléments de physiologie respiratoire chez l'amphipode caprellidé *Parvipalpus major*

CONCLUSIONS

INTRODUCTION



Dans les chapitres précédents (chapitres 3 et 4), nous avons étudié les stratégies adaptatives qui permettent aux ostracodes de réguler l'état d'oxygénation de leur tissu dans des milieux où la pression partielle d'oxygène soit varie dans l'espace (le cas des podocopes dans un gradient d'oxygénation), soit est constant (cas des myodocopes avec branchies et cœur, qui régulent leur état d'oxygénation cellulaire à différents niveaux suivant leur état d'activité en fabriquant des nids). Dans ces deux cas, c'est le comportement, migration ou formation de nids, qui permettent ces régulations apparentes. Nous avons conclu que podocopes et myodocopes devaient suivre la stratégie des faibles PO_2 .

Lors de campagnes hauturières qui devaient nous permettre de prélever des podocopes profonds (entre 300 à 1000 m), nous avons également échantillonné dans les mêmes carottes de sédiment, des petits crustacés, des caprellidés, qui n'avaient jamais été prélevés intacts et jamais observés vivants. Ces caprellidés colonisent l'interface eau-sédiment à quelques millimètres des ostracodes podocopes profonds mais vivent dans une eau normoxique ou proche de la normoxie ($PO_2 = 21 \text{ kPa}$). De plus, ces animaux possèdent des branchies décrites comme vestigiales, de très petites tailles. Ces animaux colonisant un biotope remarquablement proche de celui des podocopes, et identique d'un point de vue respiratoire à celui des myodocopes, nous avons donc décidé d'analyser les stratégies adaptatives qui leur avait permis de coloniser leur milieu actuel.

Ce chapitre est divisé en deux parties. Dans un premier temps, une étude éthologique du caprellidé *Parvivalpus major* nous a permis de décrire son comportement global. Ensuite, nous analyserons au travers d'une étude morpho-fonctionnelle, le rôle possible de ses branchies dans les échanges gazeux ainsi qu'une hypothèse suggérant comment *P. major* pourrait également suivre la stratégie des faibles PO_2 cellulaires.

**Video- study of the amphipod caprellid *Parvipalpus major* Carausu, 1941.
Morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms.**

by

Laure CORBARI, Jean Claude SORBE and Jean-Charles MASSABUAU

(2005) *Marine Biology* **146**, 363-371

L. Corbari · J. C. Sorbe · J.-C. Massabuau

Video study of the caprellid amphipod *Parvivalpus major*: morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms

Received: 3 March 2004 / Accepted: 2 July 2004 / Published online: 7 September 2004
© Springer-Verlag 2004

Abstract We present here a morpho-functional and behavioural study of the feeding adaptations developed by a deep-sea invertebrate, the caprellid amphipod *Parvivalpus major*, in an environment temporarily deprived of external food supply. The animals were taken intact from bathyal muddy sediments using a classic Barnett multi-tub corer at depths ranging from 424 to 761 m. They were transferred to the laboratory, kept in tanks with their native sediment at a constant temperature (10°C) and their behaviour was studied by video analysis. Their morphology consists of elongated somites, with pereopods 5–7 ending in elongated curved dactyls, which are longer than those of more coastal species. Analysis of the literature shows that the largest caprellids inhabit the deepest and muddiest zones. This particular morpho-functional adaptation enables the species to adopt an originally erect and steady stance by fixing onto soft muddy sediment, thus improving its ability to prospect for food in its surrounding environment. For the most part, *P. major* balances its body at its anchorage point as it searches for food in the water column, but occasionally it bends down to the substrate, and tosses some sediment into the water column. Food is then selected from the particles that float down. Presumably, after exhausting the food supply in one area, the animal jumps into the water column and moves about a body length further on. This would appear to be an original strategy for foraging larger areas of organic matter from fixed, but temporary, positions. Finally, we show that caprellids are able to practise coprophagy. To

conclude, we suggest that there is a positive correlation between body elongation and depth, with improved anchoring and coprophagy being an optimal way to conserve energy in conditions of limited diet and improve adaptation to life on deep-sea muddy bottoms.

Introduction

Studies on behavioural observations and the lifestyle of living deep-sea (>200 m) benthic epifauna inhabiting soft bottoms, the dominant biotope in the deep-sea and the largest habitat on the planet, are still scarce despite a growing interest in this subject. Those that have been done are based on either spot analyses on medium- to large-sized necrophagous animals, fish and/or invertebrates, mostly obtained with baited or non-remote cameras (see for examples Henriques et al. 2002; Hudson and Wigham 2003; Hudson et al. 2004), trawl samplings, benthic traps, multicorers (Gage and Tyler 1991; Britton and Morton 1994), or laboratory observations (Svarvarsson et al. 1990; Klages et al. 2002). We present here an analysis based on both anatomical considerations and video recordings of some aspects of the lifestyle and, more specifically the feeding habits of the caprellid amphipod *Parvivalpus major*, sampled alive with its native sediment using a deep-sea multicorer.

Caprellid amphipods are small marine crustaceans found at depths ranging from littoral to abyssal (McCain 1968; Laubitz 1972), where their role in organic matter recycling is still unknown. In the bathyal zone, they represent up to 10% of the total abundance of epibenthic fauna (authors' unpublished data, SE Bay of Biscay; Laubitz and Sorbe 1996). To date, >41 species have been sampled at bathyal depths (Guerra-García 2003) and one at abyssal depths (McCain 1966). A central finding is that, as for many coastal species (Caine 1974, 1978; Takeuchi and Hirano 1995; Guerra-García et al. 2002), most deep-sea caprellids have been reported living as epibionts in association with sponges, hydroids,

Communicated by S.A. Poulet, Roscoff

L. Corbari · J.-C. Massabuau (✉)
Laboratoire d'Ecophysiologie et Ecotoxicologie des Systèmes
Aquatiques, UMR 5805, CNRS Université Bordeaux 1,
place du Dr Peyneau, 33120 Arcachon, France
E-mail: jc.massabuau@epoc.u-bordeaux1.fr

J. C. Sorbe
Laboratoire d'Océanographie Biologique,
UMR 5805, CNRS Université Bordeaux 1,
2 rue Jolyet, 33120 Arcachon, France

bryozoans (*Aeginina longicornis*, *Protellina ingolfi*), starfishes (*Aeginella spinosa*, *Caprella equilibra*, *Phtisica marina*) and lithodid crabs (*Caprella unguolina*) (McCain 1968; Laubitz and Mills 1972; Takeuchi et al. 1989; Larsen 1998). A few coastal species, such as *Pariambus typicus* (Patton 1968; Bellan-Santini and Ruffo 1998; Guerra-García et al. 2001b), *Caprella acanthifera* (Wirtz and Vader 1996), *Caprella pseudorapax*, *Caprella sabulensis* and *Phtisica marina* (Guerra-García 2001), have been reported occasionally living on sandy bottoms with a low organic content (Guerra-García et al. 2001b). Only *Mayerella banksia*, a shelf species (2–152 m depth) from the NE Pacific coast, has been reported to be a free-ranging caprellid living erect on sandy–muddy bottoms (Caine 1978; Walther, personal communication).

The present study was carried out by sampling cores with well-preserved water–sediment interfaces taken from the depth range of 400–800 m. In the sampling area, faunal composition clearly differed from that of shelf fauna (Corbari and Sorbe 2001). Observations were made both on board, within the first minutes after sampling, and during a 2- to 3-week period at 10°C at the Marine Biological Station at Arcachon (SW France). In the deep sea, life is said to be largely dependent on organic matter, which occasionally reaches the sea floor in the form of food falls or carrion (Britton and Morton 1994), and that food availability decreases with depth (Gage and Tyler 1991). Animals were kept on their natural substratum, and we deliberately chose not to feed them with any external food supply. Our aim was to analyse the relationship between the morpho-functional and behavioural adaptation strategies developed by the species during an absence of nutritive input from surficial waters into the deep sea.

Materials and methods

Study site and field sampling procedure

All live *Parvivalpus major* specimens were sampled during OXYBENT/SEDICAN oceanographic cruises in the Capbreton canyon, Bay of Biscay, with a multicorer (Barnett et al. 1984), the primary use of which was the collection of sediment cores for geochemical purposes. This gear was equipped with eight Plexiglas cores (length, 80 cm; diameter, 10 cm) and a mechanical release system that was triggered on contact with the sea bottom. With this sampling system, each core had a well-preserved interface with in situ overlying bottom water. Depending on sampling depth and recovery speed of the gear (about 2 m s⁻¹), the time lapse from sample collection on the sea floor to emersion ranged from 4 to 6 min. Within the first minutes of sample recovery on deck, a first set of behavioural observations was made by visual inspection directly in the Plexiglas cores. Because of the extreme difficulty in collecting intact live specimens, analysis could be performed on only six individuals from three cores (43°50'N; 2°03.22'W, 29 April

2000, 552 m, $n=1$ specimen; 43°39.184'N; 1°39.823'W, 24 June 2001, 424 m; $n=2$ specimens; 43°36'N; 1°47.982'W, 23 June 2001, 761 m; $n=3$ specimens). In the Bay of Biscay, species face temperatures ranging from 10°C to 11.8°C (Ogawa and Tazuin 1973; Sorbe 1991; Corbari and Sorbe 2001). Extra specimens were also sampled for body biometric purposes with a suprabenthic sled (Dauvin et al. 1995) within the Capbreton Canyon (43°39'N; 1°39.60'W, 3 May 2000, 366 m).

Maintenance and observation methods

No attempt was made to maintain the animals under hyperbaric conditions, i.e. to mimic in situ hydrostatic pressure, but a temperature of 10°C was systematically kept constant from sample collection to laboratory observations (see “Discussion” for explanations). For that purpose, specimens were carefully collected with the original substratum contained in the upper part of each core within minutes. They were kept on board for between 1 and 3 days in thermostated tanks regulated to 10°C. At the end of the cruise, specimens were transferred within 1.5–2 h to thermostated tanks in the laboratory at the Marine Biological Station, Arcachon, France. They were finally transferred with their substratum to 2-l rearing aquariums (base, 10×10 cm; height, 20 cm) to a dark thermostated room at 10°C. Each aquarium was supplied with aerated normoxic water (1 l h⁻¹) to avoid an accumulation of excretory products. In these conditions, the animals were successfully kept alive for about a 2- to 3-week observation period with no external food supply, to mimic a period characterized by an absence of falling and/or floating nutritive particles.

Video recordings were made of six specimens using a SONY Exwave digital colour video camera equipped with a zoom Computar MLH-10X (×10) and cool-light sources provided by optic fibres. The total video recording lasted about 3 h.

Biometric measurements were performed on ten males and ten females sampled at 366 m. The main body parts were measured using an ocular eyepiece. Total length (TL) was the sum of the somites measured from head to abdomen, excluding appendices. All data are presented as mean values (± 1 SD). In addition, an extra set of measurements was taken of pereopods 5–7 (which are systematically lost in sled material) of an intact live mature female specimen in the laboratory (sample, 43°50'N; 2°03.22'W, 29 April 2000, 552 m). This measurement was not repeated on the other specimens, because they died naturally in our experimental tank and body decomposition occurred, which prohibited any relevant analysis.

Results

All the live specimens ($n=6$) sampled with the multicorer presented a total absence of external injury. When

the multicorer was recovered on board, the animals were standing upright at the water–sediment interface, and this was checked by immediate visual observations. They were firmly anchored in the sediment, with all dactylus (pereopods 5–7) sunk deeply into the mud. It is important to note that when we tried to sample them with forceps, there was a surprisingly high resistance to extraction. This was the first set of observations, which showed the efficiency of the animals' fixation in their muddy biotope. This particular behaviour was observed throughout the observation period: specimens remained perfectly active and constantly maintained their original upright position. Thus, despite the absence of hyperbaric pressurization, no evidence of physiological disorder was observed from general behaviour and cleansing activity from 0 to 21 days.

Table 1 *Parvipalpus major*. Biometric measurements (mm) on adult males ($n=10$) and females ($n=10$) and on pereopods (P5–P7) from sample SC1-MT18 ($n=1$) (posterior seg. posterior segment including cumulative length of somite 6, somite 7 and abdomen). Body measurements are mean values (\pm standard deviation)

Body	Adults		
	Male	Female	
Head	1.69 \pm 0.35	1.27 \pm 0.05	
Somite 2	2.80 \pm 0.67	2.05 \pm 0.13	
Somite 3	3.88 \pm 0.97	1.77 \pm 0.08	
Somite 4	5.69 \pm 1.32	3.45 \pm 0.16	
Somite 5	7.13 \pm 1.65	4.45 \pm 0.23	
Posterior seg.	0.95 \pm 0.15	0.73 \pm 0.06	
Total length	22.13 \pm 5.09	13.72 \pm 0.63	

Body	Pereopods		
	P5	P6	P7
Basis	0.7	0.6	0.7
Ischium	0.1	0.1	0.1
Merus	0.6	1.2	1.4
Carpus	1.4	1.5	1.6
Propodus	1.5	1.9	2.0
Dactylus	1.5	2.1	Broken
Total length	5.8	7.5	> 5.8

Morpho-functional adaptation

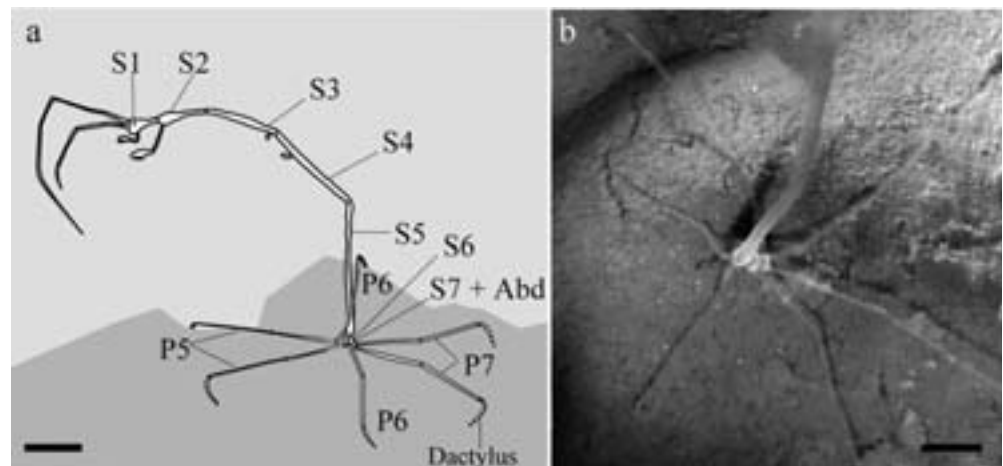
Morphology

The general morphological characteristics of the species are presented in Table 1. Mean total body length was 13.7 \pm 0.6 mm for adult females with fully developed marsupium ($n=10$) and 22.1 \pm 5.1 mm for males ($n=10$). Remarkably, somites 4 and 5 were the longest parts of the body. In both females and males, their proportions (expressed as a percent of TL) were not significantly different. For somite 4, they were, respectively, 25.2 \pm 0.3% and 25.7 \pm 0.3%, and, for somite 5, they were, respectively, 32.4 \pm 0.5% and 32.2 \pm 0.4%. Only somite 3 was proportionally shorter in females (12.9 \pm 0.3%, mean \pm IC 95%; $n=10$) than in males (17.4 \pm 0.4%; Mann–Whitney U -test, $P < 0.001$). Note that the sum of somites 3–5 represents >70% of the total body length. The particular morphology of the posterior pereopods 5–7, which enabled a firm standing position, is shown in Fig. 1a, b. The three pairs of appendices are organized radially and present a very similar morphology. The joints are elongated, ending in a curved dactylus (see Table 1).

Stationary posture

Upright behaviour at the sediment–water interface, consisting of an erect stance at the anchoring point formed by pereopods 5–7, was a fundamental characteristic of *P. major*. This was systematically observed both on board (i.e. a few minutes after sampling from the sea bottom) and throughout our laboratory observations (Fig. 1). The six reared caprellids maintained this stationary posture for about 99% of the total video recording time. Together with the on board preliminary observations, this strongly suggests that this was the natural in situ posture. The two pereopods no. 5 presented an angle of about 90° between them. Pereopods 6 were on the lateral side (about 180° between them) and pereopods 7 behind (at about 50°). Remarkably, the

Fig. 1a, b *Parvipalpus major*. Standing position. **a** General anatomy; **b** detail of the radiate disposition on its native muddy sediment. Dactylus are burrowed in the sediment, ensuring firm anchoring. Scale bars: 4 mm (a); 2 mm (b) (S1–7 somites 1–7; Abd abdomen; P5–7 pereopods 5–7). Pictures taken under laboratory conditions



dactyls of pereopods 5–7 were burrowed into the sediment, down to the dactylus/propodus articulation. The anchorage area, as defined by pereopod extension on the bottom, was estimated to be about 60 mm² in a specimen of 14 mm TL. Firmly anchored on its posterior body, *P. major* was mobile around the articulation between somites 5 and 6 (Fig. 1b).

Behaviour

The above morphofunctional description (elongated body, standing posture, firm anchoring ability) can be taken as an adaptation to foraging on muddy sediment with low water currents. We thus studied the advantage it represents in the absence of significant nutritive inputs from the water column. Figure 2 summarizes the time spent on the different observed behaviours in such conditions, without experimentally added food. In short, the animals spent 99% of the total recording time (TR) standing up, either feeding or cleansing themselves, and 1% swimming. Three different feeding strategies were observed.

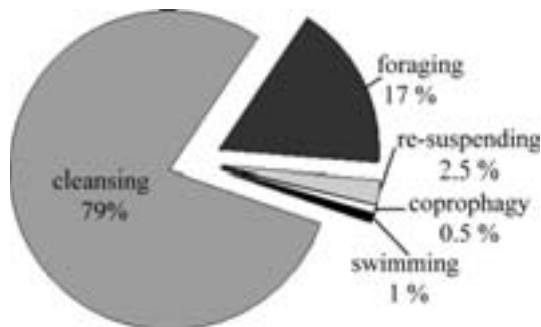
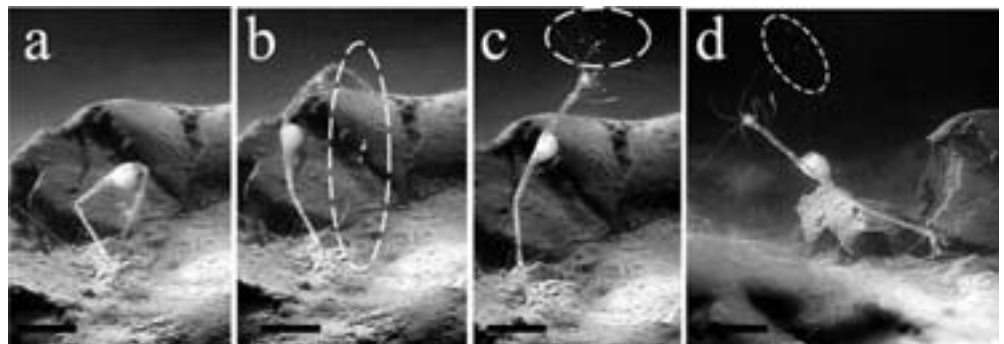


Fig. 2 *Parvivalpus major*. Time distribution of main types of behaviour in *P. major* deprived of external food supply in the water column. Data are given in percentage of the total recording. Note that animals spent most of the time standing upright (99%) and that cleansing and food collection by foraging in the sediment were the two main activities

Fig. 3a–d *Parvivalpus major*. Full sequence of re-suspending sediment behaviour (a–d; 1 frame per 0.5 s) in an incubant female. The antennae touch the floor, some sediment is stick on them and then, thrown (dashed circles) into the water column. They are then selected in the water column. Scale bar: 4 mm. Pictures taken under laboratory conditions



Feeding

Strategy 1 (17% TR): the animals prospected their surrounding environment by balancing their body around their anchorage point. During these sequences, gnathopods 1 maintained continuous activity and gnathopods 2 remained perpendicular to the body, ready to catch any floating particle as shown in Fig. 1a.

Strategy 2 (2.5% TR): the animals regularly bent the anterior part of their body down to the sea floor so that all the anterior appendices came into contact with the sediment (Fig. 3a). Then, following a rapid re-erection (Fig. 3b), some superficial sediment layer was thrown into the water column and the animals rapidly selected some particles from those that floated down (Fig. 3c, d). If one models the prospected field as a half hemisphere, where the radius is the body length, then for a specimen of 1 cm TL, this represents a maximum prospectable surface area of ~3 cm² and a water volume of ~2 ml.

Strategy 3 (0.5% TR): 8 days after the beginning of the laboratory observation, one specimen was observed eating its own faeces. The full sequence took 1 min. The faeces were initially located in the animal's hindgut, from somite 5 to the end of the abdomen. At first, the animal bit off the end of the faeces at the anus (same posture as in Fig. 3a). The dead-end of the faeces was caught by the gnathopods, then within 5 s, the animal gently extracted the faeces from its hindgut, while recovering its erect posture. Feeding started immediately with avidity, while the faeces were grasped between dactyl and propodus of gnathopods 2 (Fig. 4). The faeces were progressively brought to the mouthparts by alternate grasping movements of gnathopods 1 and gradually ingested.

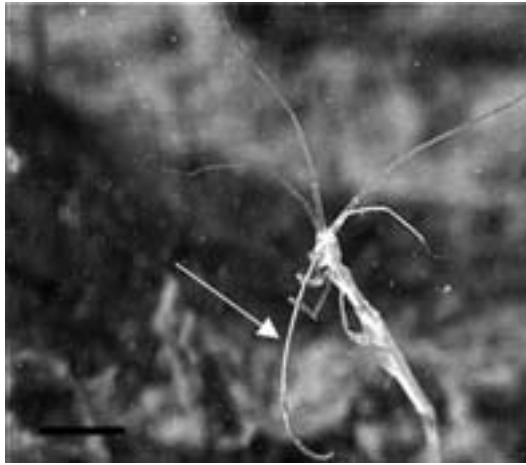


Fig. 4 *Parvivalpus major*. Coprophagy: handling of and feeding on a faeces (arrow) are performed by gnathopods. Scale bar: 2 mm. Pictures taken under laboratory conditions

Cleansing

During steady standing periods, the reared caprellids (both males and females) spent most of the time in cleansing activity, which always involved the small-sized gnathopods 1 on the antennae, gnathopods 2 and some body somites (Fig. 5a, b, c).

Antennal cleansing: antennal cleansing was a major activity (75% of the cleansing observation period, i.e. 60% TR). Right and left gnathopods 1, either one after the other or both together, periodically cleansed both pairs of antennae. The antennal appendages were flexed ventrally, grasped by gnathopods 1 (near the articulation between propodus and dactyl) and withdrawn anteriorly. During these cleansing movements, the grasping gnathopod slid all the way along the antennal appendages, from the basal joint of the peduncule to the top of the flagellum (Fig. 5a).

Gnathopod 2 cleansing:

the second gnathopods were periodically cleansed by both gnathopods 1 acting simultaneously and symmetrically. This cleansing activity concerns the palmar margin of the propodus, the elongated basis and the nearby dorsal part of somite 2, all areas which were directly investigated by gnathopods 1 without any flexing of the body.

Body cleansing:

gnathopods 1 were associated with flexing of the body, but were also involved in body cleansing, mainly somite 4 (including gills) and somite 5. As observed for antennal appendages, these posterior somites were grasped between the propodus and dactylus of gnathopods 1 and slid near their articulation during the cleansing movement (Fig. 5b, c).

Swimming

Two spontaneous swimming events of 30–60 s each (1% TR) were observed. When they started, the reared caprellids abandoned their anchorage posture, and thus their sessile behaviour (Fig. 6), to swim, or, more exactly, to jump with some effort into the water column (Fig. 6b, c). The swimming movements consisted of a series of three to four jumps occurring within the 1- to 2-cm layer above the interface and resulted in displacements of no greater than 2–3 cm. These “swimming/jumping” movements resulted from the rowing action of gnathopods 2 and pereopods 5–7 and from the flexing of three body parts (head–somite 2; somites 3–4; somite 5–abdomen–pereopods). At the beginning of a swimming sequence (Fig. 6a), head–somite 2 and somites 3–4 were aligned, while the posterior part formed an obtuse angle with the preceding one in the sagittal plane, with the radiant pereopods bent backwards parallel to

Fig. 5a–c *Parvivalpus major*. Cleansing behaviour: **a** antennal cleansing; **b** and **c** body cleansing. Scale bars: 1 mm (a); 6 mm (b); 3 mm (c). Pictures taken under laboratory conditions

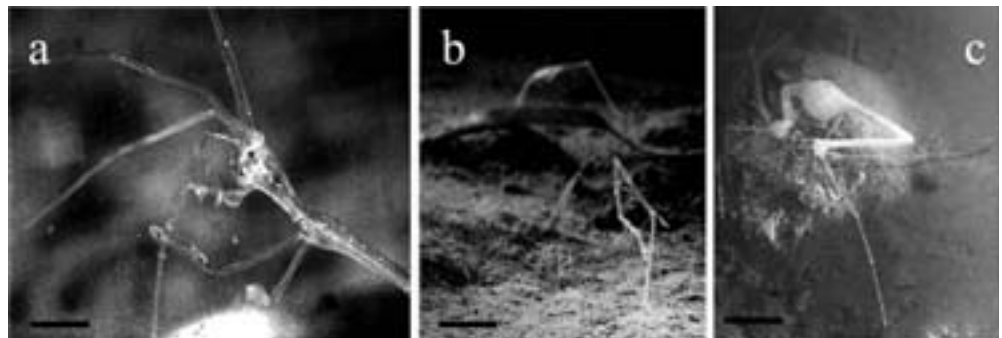
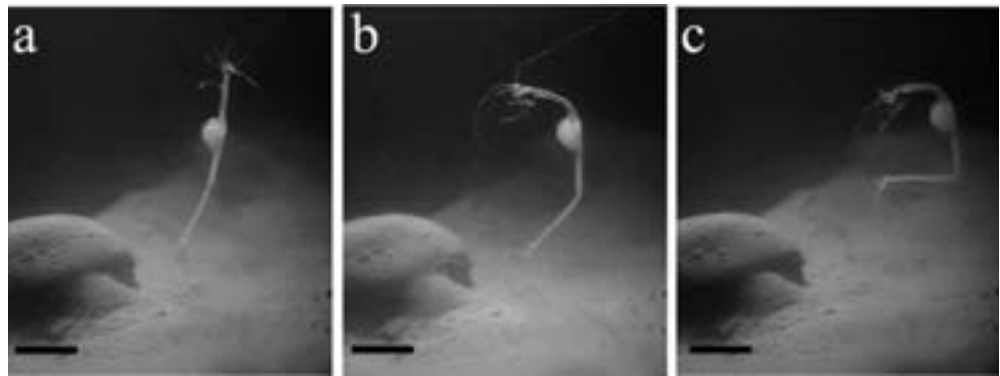


Fig. 6a–c *Parvivalpus major*. Swimming: **a** take off; **b** propulsion phase; **c** backward jump in a female. Scale bar: 4 mm (a to c; 1 frame s^{-1}). Pictures taken under laboratory conditions



somite 5 and gnathopods 2 in an upright position more or less parallel to the body. During the propulsion phase (Fig. 6b), the anterior and posterior body parts were folded up against the second body part; gnathopods 2 came down to a lateral position perpendicular to somite 2 and the radiant pereopods performed a dorso-ventral rowing movement associated with a flexing of the posterior body part. The resulting movement was a backward jump (Fig. 6c).

Discussion

The present results are, to our knowledge, the first reported morpho-functional and behavioural study performed on a small-sized amphipod originating from the deep-sea epifauna. We show that *Parvivalpus major* is not an epibiont, but a free-living species, colonizing the soft sediment–water interface. It is fixed upright on muddy bottoms and occasionally performs 2- to 3-cm jumps. We have described an original adaptation strategy characterising how *P. major* functions in terms of standing and displacement behaviour, and also feeding habits. Preliminary observations were performed within minutes of the amphipod being brought on board, by visual inspection of intact cores with preserved water–sediment interfaces, and under laboratory conditions by video analysis under natural conditions. As we observed constant behaviour from deck to laboratory, as well as quiet cleansing activity and feeding behaviour, we strongly suggest that our rearing conditions at normobaric pressure, though at 10°C, did not significantly impair the in situ behaviour of this caprellid and allowed us to perform some original behavioural observations on this species.

Sampling techniques and laboratory conditions

Comparison with previous methods

The little known behaviour of minute, deep-sea bottom animals is evidently related to the difficulty of carrying out experimental observations on living specimens. Specifically, the species of caprellid we studied has never been collected intact and alive from a deep-sea

environment. Until now, *P. major* specimens had only been sampled from the SE Bay of Biscay, by means of suprabenthic sleds towed along the sea bottom (Dauvin and Sorbe 1995; Marquiegui and Sorbe 1999; Corbari and Sorbe 2001), with the result that the animals systematically sustained injuries and lost pereopods 5–7. These sleds (Sorbe 1983; Dauvin et al. 1995) can prospect large areas of the sea floor (about 100–200 m²) and can thus collect large numbers of caprellid specimens (up to 496 ind. sample⁻¹). The maximum abundance value recorded on muddy bottoms from the upper bathyal in the Capbreton Canyon was 262 ind. per 100 m² at a depth of 308 m (Sorbe, unpublished data). The Barnett multicorer was formerly used only for bio-geochemical and paleo-biological analysis. It samples small surface areas of 72 cm² tube⁻¹, which represents a total area of 0.06 m² shot⁻¹. As the maximum density was ~3 ind. m⁻² in the study zone (see above), 30–40 shots were required to catch six specimens. We suggest that this multicorer gear is an interesting alternative for collecting live small-sized invertebrates with their surrounding environment preserved.

Laboratory conditions

P. major specimens were kept at sea level barometric pressure in a dark thermostated room, except during behavioural analysis when video recordings were made under short-term artificial illumination. The specimens were kept with their original sediment, without any attempt to supply external food, as our aim was to study to what extent their particular morphology was an adaptation to the absence of falling food particles. According to Keith (1969), littoral caprellids can live up to a month on the same substrate in the laboratory without additional food. This observation was supported by the present work, as caprellids were reared during 2–3 weeks without external addition to the food supply, i.e. in 1.5 cm³ of sediment. It is suggested that these specimens found sufficient food resources in the natural substratum present in the rearing aquarium at each anchorage point. Thus, this allows them to exhibit some of the adaptation developed in the deep sea, where they also rely on occasional organic matter derived from primary production in the surface layers of the ocean

(Britton and Morton 1994). Under the present experimental conditions, we did not simulate in situ hyperbaric pressure. However, we did systematically maintain a temperature of 10°C, instead of the mean in situ value of 11°C, in an attempt to maintain in situ membrane fluidity. Indeed, a major effect of pressure is a change induced in membrane system structures, especially protein and lipid functions (Chong and Cossins 1983; Chong et al. 1985). According to Somero (1991), a decrease in temperature from 1.3°C to 1.9°C decreases membrane fluidity by about the same amount as an increase in pressure of 100 atm.

Morpho-functional and behavioural adaptations

Body elongation

The body elongation of *P. major* is a major characteristic of the species, but is this an advantageous adaptation to deep-sea conditions? Figure 7a presents a literature analysis of the relationship between maximum body length and maximum depth for different known caprellid species ($r^2 = 0.72$, $P = 0.00024$). Interestingly, it shows that the smallest species are found from 0 to 150 m, but are absent in the deepest zones down to 3500–4000 m. Consequently, we suggest that body elongation could be a key adaptation by caprellids for inhabiting the deep-sea biotope. As for the underlying mechanism explaining this relationship, an interesting hypothesis is certainly the nature of the prey–predator interactions in the deep sea. It is indeed hypothesized that predator pressure is reduced with depth, due to the absence of light and low animal abundance in the deep sea. Our behavioural study on *P. major* shows how body elongation allows it to prospect larger sea-bottom areas and greater water volumes (Fig. 7b). Moreover, when a given sediment area has been prospected ($\sim 3 \text{ cm}^2$, based on a theoretical elongation ability of 1 cm around the mid-anchorage point, see Fig. 3), *P. major* can jump by one or two body lengths to a new place. This particular anatomical adaptation and behaviour certainly represent an interesting strategy to minimize the energy spent in the search for food. Note that, as the animal density in the studied area was 1 ind. per 3300 cm^2 , this represents a theoretical 1000 potential places per animal to explore for food.

Pereopod morphology

The few published studies on caprellid behaviour have described the clinging posture and crawling movement of coastal epibiont species (Caine 1978; Takeuchi and Hirano 1995; Guerra-García et al. 2002). To our knowledge, only one other coastal species, *Mayerella banksia*, from the Pacific coast of Canada (Laubitz 1970), has been reported to assume an upright stance on sediment (Caine 1978). Figure 7c shows morphological differences between *P. major* and *M. banksia*. The body anchorage of *M. banksia* is achieved by only two pairs of

pereopods (P6 and P7). Pereopods 5 are minuscule and situated about midway along somite 5 (see Fig. 3b in Caine 1978) and are thus useless for an anchoring function. *P. major*, on the contrary, has three pairs of thin, elongated pereopods (P5, P6 and P7) ending in long, curved dactyls anchored in the sea floor. The result is that in *P. major*, the arrangement of the pereopods strongly suggests a more efficient radial anchorage. Long, thin dactyls are certainly an important adaptation for standing firmly erect on muddy bottoms.

When considered altogether, the above set of data strongly suggests that the morpho-functional adaptation in *P. major* represents an original strategy, halfway between sessile animals, able to face water currents despite a movable support, and free-ranging epibenthic species exposed to drift.

Food research

In this report, we have described three original aspects regarding feeding strategy in *P. major*—predation, sea-bottom scavenging and coprophagy. Until now this species could only be classified as a predator using Caine's (1974, 1977) categories, based on the morphological variations of head appendages and the relative size of second gnathopods. In *M. banksia*, Caine (1978) reported a “wait and see” method for capturing prey present in the water column and occasionally some scavenging on highly organic bottoms. Prey organisms captured by *M. banksia* were mainly harpacticoid copepods, ostracods and gammarid amphipods.

Under our experimental conditions, in which we deliberately refrained from supplying such prey, we enhanced scavenging behaviour to study adaptation to periods of low food availability. We showed that *P. major* is able to pick up sediment and scatter it in the water in order to feed on it. Interestingly, Myers and Lowry (2003) have shown that in evolutionary terms caprellids originated from corophioids, which are also entirely capable of performing similar behaviour. Specifically, *Corophium volutator* is able to bring boli of sediment into their burrow and, using a water current generated by their pleopods, sift the sediment for the lighter particles. An interesting analogy can also be made with spionid polychaetes, which are known to put their tentacles on the sediment surface to pick up food particles when the suspended load is too light. When the amount of suspended particles increases to a specific level, the animal feeds with its tentacles in the water column (Lindsay and Woodin 1995). Most of those who have kept suspension-feeding polychaetes in still water with low amounts of suspended food have observed them to bend over and take material at the sediment interface (Jumars et al. 1982). Finally, it should be noted that low-density particles, which settle more slowly, have much higher food value (Mayer et al. 1993). Looking for food on the sediment, thus, clearly appears to be an adaptation to periods of low food availability.

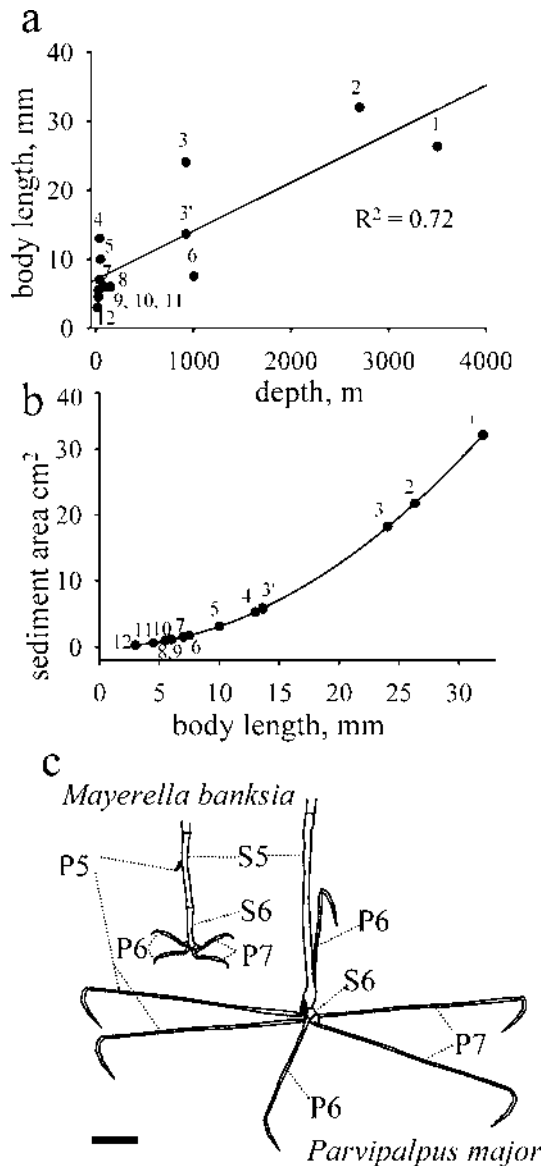


Fig. 7a–c Caprellids. **a** Relationship between maximum body length and maximum depth occurrence in different caprellids. The smallest species are absent from the deepest biotopes. **b** Maximum prospectable surface area (cm²) versus maximum body length. An elongated body length allows caprellids to prospect largest sediment areas without moving. **c** Comparative drawing of *Parvipalpus major* and *Mayerella banksia* (coastal species), illustrating major morphological differences and thus bottom anchorage patterns (*M. banksia* redrawn from Fig. 3b in Caine 1978). The morphological adaptation in *P. major* is an improvement for foraging larger soft bottoms areas from a single standing point (S5–S6 somites 5 and 6; P5, P6 and P7 pereopods 5, 6 and 7). Scale bar: 1 mm [1 *Abyssicaprella galactae* (McCain 1966); 2 *Proaeginina norvegica* (Fig. 3 in Laubitz and Mills 1972); 3 *Parvipalpus major* male (in Guerra-García 2003); 3' *Parvipalpus major* female; 4 *Caprella acanthifera* (Wirtz and Vader 1996); 5 *Parvipalpus linea* (Fig. 546 in Krapp-Schickel 1993); 6 *Parvipalpus colemani* (Fig. 6 in Guerra-García 2003); 7 *Parvipalpus capillaceus* (Fig. 426 in Chevreux and Fage 1925); 8 *Mayerella banksia* (Fig. 4 in Laubitz 1970); 9 *Pariambus typicus* (Guerra-García 2001); 10 *Caprella sabulensis* (Guerra-García 2001); 11 *Caprella pseudorapax* (Fig. 1 in Guerra-García et al. 2001b); 12 *Parvipalpus onubensis* (Fig. 1 in Guerra-García et al. 2001a)]

Finally, but importantly, we have also shown that *P. major* is able to practise coprophagy. This particular behaviour has never been mentioned before in the literature on deep-sea animals, but has only been observed in the freshwater gammarid *Dikerogammarus villosus* (Platvoet, personal communication). *D. villosus* is also able to bring its head towards its anal opening, push its faeces out, check it with its mouthparts and ingest it with evident interest.

Combined together, scavenging and coprophagy are possibly of paramount importance in terms of energy balance in the deep sea, where food supply is scarce and episodic. Whether this is part of a more general pattern in these environments remains to be studied.

In conclusion, the present work reported on the morpho-functional and behavioural adaptations of a caprellid inhabiting deep-sea soft bottoms. We have described how *P. major* stands erect on the mud, collects food (predation, scavenging, coprophagy) and should be able to face low to moderate bottom water currents. The firm anchorage strategy *P. major* exhibits is certainly, at population level, a significant adaptation for facing dramatic events such as those occurring at turbidity frontiers. Such a turbidity event has recently been described in the Capbreton Canyon (Mulder et al. 2001). The food that reaches the deep sea is sparse and usually very refractory, and organic material remains on the bottom for long periods. In addition to the low temperature and high hydrostatic pressure effects, this is a reason for low bacterial activity and the burial of organic matter. The strategy of long-term fixation, with periodic displacements and soil turnover at a fixed point, is thus likely to be an interesting adaptation to improve global energy conservation in a relatively low-density population. It certainly represents an original and suitable balance between the cost of food uptake and energy expenditure in a deep-sea species.

Acknowledgements The authors are most grateful to the crew members of the R.V. “Côtes de la Manche” for their help in field research. This study was partially supported by CIRMAT-CNRS (OXYBENT 10 and SEDICAN 1–2 oceanographic cruises and loan of the “Roscoff” suprabenthic sled). Thanks to S. Ruffo, W. Vader, I. Takeuchi, D. Platvoet, P. Jumars, L. Watling and F. Carlotti for valuable discussions. S. Walther and A. Ranasinghe (Southern California Bight Regional Monitoring Program) provided ecological information on the Californian caprellid *Mayerella banksia*.

References

- Barnett PRO, Watson J, Connely D (1984) A multiple corer for taking virtually undisturbed samples from shelf, bathyal and abyssal sediments. *Oceanol Acta* 7:399–408
- Bellan-Santini D, Ruffo S (1998) Faunistics and zoogeography. In: Ruffo S (ed) *The Amphipoda of the Mediterranean*, part 4. Mem Inst Oceanogr (Monaco) 13:895–912
- Britton JC, Morton B (1994) Marine carrion and scavengers. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 32:369–434
- Caine EA (1974) Comparative functional morphology of feeding in three species of caprellids (Crustacea, Amphipoda) from the northwestern Florida gulf coast. *J Exp Mar Biol Ecol* 15:81–96

- Caine EA (1977) Feeding mechanisms and possible resource partitioning of the Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) from the Puget Sound, USA. *Mar Biol* 42:331–336
- Caine EA (1978) Habitat adaptations of North American caprellid Amphipoda (Crustacea). *Biol Bull (Woods Hole)* 155:288–296
- Carausu A (1941) Notes sur quelques caprellides des eaux françaises et monégasques. *Bull Inst Oceanogr (Monaco)* 803:1–15
- Chevreaux E, Fage L (1925) Faune de France, vol 9: Amphipodes. Office central de faunistique, Paris
- Chong PLG, Cossins AR (1983) A differential polarized phase fluorometric study of the effect of high hydrostatic pressure upon the fluidity of cellular membranes. *Biochemistry* 22:409–415
- Chong PLG, Fortes AG, Cossins AR (1985) Mechanisms of inhibition of (Na-K)-ATPase by hydrostatic pressure studied with fluorescent probes. *J Biol Chem* 260:14484–14490
- Corbari L, Sorbe JC (2001) Structure of the suprabenthic assemblages in the Capbreton area (SE of the Bay of Biscay). In: Elbée J, Prouzet P (eds) *Océanographie du golfe de Gascogne VIIe Colloq Int. IFREMER (Inst Fr Rech Exploit Mer) Actes Colloq* 31:87–95
- Dauvin JC, Sorbe JC (1995) Suprabenthic amphipods from the southern margin of the Cap-Ferret Canyon (Bay of Biscay, northeastern Atlantic Ocean): abundance and bathymetric distribution. *Pol Arch Hydrobiol* 42:441–460
- Dauvin JC, Sorbe JC, Lorgere JC (1995) Benthic boundary layer macrofauna from the upper continental slope and the Cap-Ferret canyon. *Oceanol Acta* 18:113–122
- Gage JD, Tyler PA (1991) A natural history of the organisms at the deep-sea floor. Cambridge University Press, Cambridge
- Guerra-García JM (2001) Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia* 55:27–38
- Guerra-García JM (2003) Two new species of deep-water caprellids (Crustacea: Amphipoda) from north-eastern Brazil. *Cah Biol Mar* 44:171–184
- Guerra-García JM, García-Asencio I, Sánchez-Moyano JE (2001a) *Parvipalpus onubensis*, a new species (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) from the Atlantic coast of southern Spain. *Sci Mar* 65:333–339
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE, García-Gómez JC (2001b) Two new species of *Caprella* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) collected on sandy bottoms in the Strait of Gibraltar. *Hydrobiologia* 448:181–192
- Guerra-García JM, Corzo J, García-Gomez JC (2002) Clinging behaviour of the Caprellidea (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Crustaceana* 75:41–50
- Henriques C, Priede IG, Bagley PM (2002) Baited camera observations of the deep-sea demersal fishes of the Northeast Atlantic Ocean at 15–28°N off West Africa. *Mar Biol* 141:307–314
- Hudson I, Wigham B (2003) In situ of predatory feeding behaviour of the galatheid squat lobster *Mumida sarsi* (Huus, 1935) using a remotely operated vehicle. *J Mar Biol Assoc UK* 83:4264–4265
- Hudson IR, Wigham BD, Tyler PA (2004) The feeding behaviour of a deep-sea holothurian, *Stichopus tremulus* (Gunnerus) based on in situ observations and experiments using a remotely operated vehicle. *J Exp Mar Biol Ecol* 301:75–91
- Jumars PA, Self RFL, Nowell ARM (1982) Mechanics of particle selection by tentaculate deposit feeders. *J Exp Mar Biol Ecol* 64:47–70
- Keith DE (1969) Aspects of feeding in *Caprella californica* Stimpson and *Caprella equilibra* Say (Amphipoda). *Crustaceana* 16:119–124
- Klages M, Muyakschin S, Soltwedel T, Arntz WE (2002) Mechanoreception: a possible mechanism for food fall detection in deep-sea scavengers. *Deep-Sea Res* 49:143–155
- Krapp-Schickel G (1993) Suborder Amphipoda Caprellidea. In: Ruffo S (ed) *The Amphipoda of the Mediterranean*, part 3 *Mem Inst Oceanogr (Monaco)* 13:802–804
- Larsen K (1998) Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Faroe Islands waters, with a key to the North Atlantic species. *Frøðskaparrít 46:81–90*
- Laubitz DR (1970) Studies on the Caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of the American North Pacific National Museum of Natural Sciences. *Can Publ Biol Oceanogr* 1:1–89
- Laubitz DR (1972) The Caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of the Atlantic and Arctic. *Can Publ Biol Oceanogr* 4:1–82
- Laubitz DR, Mills EL (1972) Deep-sea Amphipoda from the western North Atlantic Ocean: Caprellidea. *Can J Zool* 50:371–383
- Laubitz DR, Sorbe JC (1996) Deep-water caprellids (Amphipoda: Caprellidea) from the Bay of Biscay: a new species and a new locality record. *J Crustac Biol* 16:626–632
- Lindsay SM, Woodin SA (1995) Tissue loss induces switching of feeding mode in spionid polychaetes. *Mar Ecol Prog Ser* 125:159–169
- Marquiegui MA, Sorbe JC (1999) Influence of the near-bottom environmental conditions on the structure of the bathyal macrobenthic crustacean assemblages from the Capbreton canyon (Bay of Biscay, NE Atlantic). *Acta Oecol Int J Ecol* 20:353–362
- Mayer LM, Jumars PA, Taghon GL, Macko S, Trumbore S (1993) Low-density particles as potential nitrogenous foods for benthos. *J Mar Res* 51:373–389
- McCain JC (1966) *Abyssicaprella galatheae*, a new genus and species of abyssal caprellid (Amphipoda: Caprellidae). *Galathea Repl* 8:91–95
- McCain JC (1968) The Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) of the western North Atlantic. *Bull US Natl Mus* 278:1–147
- Mulder T, Weber O, Anschutz P, Jorissen J, Jouanneau JM (2001) A few months-old storm-generated turbidite deposited in the Capbreton Canyon (Bay of Biscay, S-W France). *Geo-Mar Lett* 21:149–156
- Myers AA, Lowry JK (2003) A phylogeny and new classification of the Corophiidea (Amphipoda). *J Crustac Biol* 23:443–485
- Ogawa N, Tauzin P (1973) Contribution à l'étude hydrologique et géochimique du Gouf de Capbreton. *Bull Inst Géol Bassin Aquitaine* 14:19–46
- Patton WK (1968) Feeding habits, behaviour and host specificity of *Caprella grahmi*, an amphipod commensal with the starfish *Asterias forbesi*. *Biol Bull (Woods Hole)* 134:148–153
- Somero G (1991) Hydrostatic pressure and adaptations to the deep sea. In: Ladd Prosser C (ed) *Comparative environmental and metabolic animal physiology*. Wiley-Liss, New York, pp 163–203
- Sorbe JC (1983) Description d'un traîneau destiné à l'échantillonnage quantitatif étagé de la faune suprabenthique néritique. *Ann Inst Oceanogr* 59:117–126
- Sorbe JC (1991) Biología del misidáceo suprabentónico *Schistomysis ornata* (Sars, 1864) en la plataforma continental aquitana (suroeste de Francia). In: *Actas V Simp. Ibér. Estud. Bentos Mar*. La Laguna University, Puerto de las Cruz, pp 273–298
- Svavarsson J, Brattegard T, Stronberg JO (1990) Distribution and diversity patterns of asellote isopods (Crustacea) in the deep Norwegian and Greenland Seas. *Prog Oceanogr* 24:297–310
- Takeuchi I, Hirano R (1995) Clinging behaviour of the epifaunal caprellids (Amphipoda) inhabiting the *Sargassum* zone on the Pacific coast of Japan with its evolutionary implications. *J Crustac Biol* 15:481–492
- Takeuchi I, Takeda M, Takeshita K (1989) Redescription of the bathyal caprellid, *Caprella unguina* Mayer, 1903 (Crustacea, Amphipoda) from the North Pacific. *Bull Natl Sci Mus (Tokyo)* 15:19–28
- Wirtz P, Vader W (1996) A new caprellid–starfish association: *Caprella acanthifera* s.l. (Crustacea: Amphipoda) on *Ophidiaster ophidianus* and *Hacelia attenuata* from the Azores. *Life Mar Sci* 14:17–22

ELEMENTS DE PHYSIOLOGIE RESPIRATOIRE

CHEZ L'AMPHIPODE CAPRELLIDE *PARVIPALPUS MAJOR*

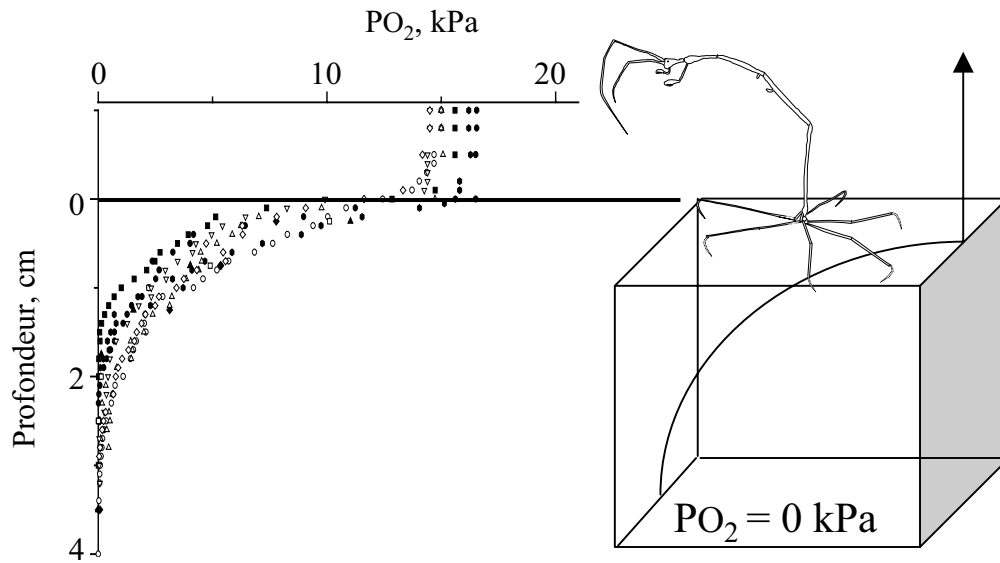


Figure 60 : Positionnement du caprellidé *Parvipalpus major* à l'interface eau-sédiment et gradients d'oxygénation mesurés sur les stations de prélèvements dans le Golfe de Gascogne (B et E, Chap. 1, Fig. 44). Noter la valeur de PO_2 dans l'eau environnant l'animal, ≈ 15 kPa ($T = 10^\circ C$).

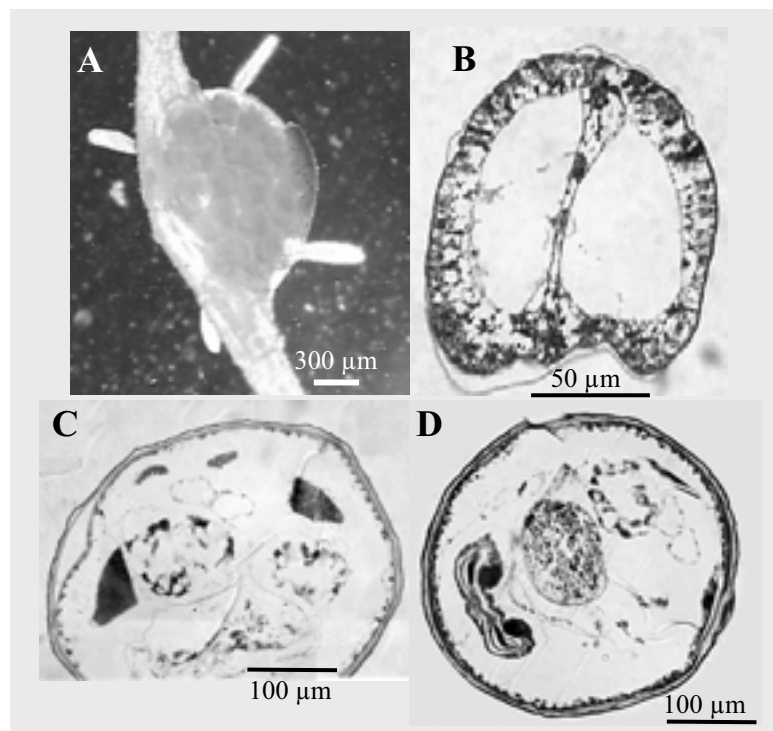


Figure 61 : anatomie morpho-fonctionnelle de *Parvipalpus major*. **A**- vue générale des branchies sur une femelle gravide. **B**- coupe transversale au niveau d'une branchie. **C**, **D**- coupes transversales au niveau des segments thoraciques. Noter l'épaisseur de l'épithélium branchial en comparaison avec celui du corps.

INTRODUCTION

Comme nous venons de le voir dans l'article précédent, *Parvipalpus major*, est un petit crustacé qui colonise la surface des fonds océaniques vaseux. Il présente un corps grêle, allongé, caractérisé par des segments cylindriques et possède deux paires de branchies de petite taille et un système circulatoire simple les perfusant. Ancré sur le sédiment, son activité est constituée majoritairement par des mouvements de balancier régulier du corps dans la colonne d'eau, à la recherche de nourriture.

Comme nous l'avons vu dans l'article précédent, l'accès à ces animaux est extrêmement délicat et difficile puisqu'il faut bénéficier de moyens à la mer tout à fait particuliers pour obtenir quelques rares spécimens intacts et vivants. D'autre part, leur taille excessivement réduite limite considérablement l'approche physiologique expérimentale qui peut être réalisée. L'étude que nous présentons est par conséquent limitée à une approche anatomo-fonctionnelle basée, (i) sur des enregistrements de comportement dans des conditions reproduisant au mieux des conditions écologiquement réalistes (Corbari *et al.*, sous presse-b) et (ii), une analyse morphologique et morphométrique. C'est à partir de ces deux approches que nous avons tenté de dériver des principes de fonctionnement de leur système d'approvisionnement en oxygène.

RESULTATS - DISCUSSION

La figure 60 présente le positionnement de *Parvipalpus* et les gradients d'oxygénation mesurés autour de *Parvipalpus major* dans son environnement naturel (stations B et E du Golfe de Gascogne ; Hyacinthe *et al.*, 2001) quelque soit la période de l'année, au moment des échantillonnages, la pression partielle d'oxygène dans les premiers centimètres au dessus de l'interface eau-sédiment était 14-16 kPa.

Parvipalpus major possède quatre branchies qu'on pourrait qualifier classiquement de vestigiale par analogie avec la littérature (Fig. 61A). Pour estimer l'importance de ces branchies dans les échanges gazeux nous avons tout d'abord mesuré leurs tailles. Chez un individu de 13 mm, la longueur moyenne est $400 \pm 10 \mu\text{m}$ et le diamètre $120 \pm 4 \mu\text{m}$. Assimilant leur forme à celle d'un cylindre, la surface d'échange au niveau de chaque branchie est donc de $0,15 \text{ mm}^2$. La surface totale branchiale représente alors $0,6 \text{ mm}^2$. On peut

d'ores et déjà remarquer que cette surface est excessivement faible, en particulier en considérant qu'une branchie, pour être efficace en terme d'échanges gazeux, doit représenter une augmentation de la surface d'échange. La seconde adaptation doit être une diminution des distances de diffusion entre l'eau et le sang. Chez les poissons, par exemple, l'épaisseur moyenne des épithéliums branchiaux est comprise entre 0,5 et 10 μm (Hughes, 1984). La figure 61B est une coupe transversale de ces branchies qui met en évidence au contraire une plus forte épaisseur de l'épithélium branchial et donc de la couche de diffusion pour les gaz respiratoires. Cette distance varie dans la gamme 10-30 μm et aucune zone présentant une épaisseur plus faible n'a pu être observée sur l'ensemble des coupes analysées. Comparée à des branchies de crustacés, cette épaisseur est caractéristique de tissus impliqués dans les échanges ioniques et en aucun cas, de tissus spécialisés dans les échanges respiratoires où la distance de diffusion est généralement comprise entre 1,5 et 5 μm (Taylor et Taylor, 1992). Ces deux résultats, surface et épaisseur branchiales, suggèrent par conséquent très fortement que les branchies de *Parvipalpus major* ne peuvent jouer qu'un rôle mineur dans le bilan des échanges gazeux.

Takeuchi et al. (2003) ont étudié l'histologie des branchies de divers caprellidés littoraux (*Caprella danilevskii*, *C. subinermis*, *C. penantis* R-type et *C. verrucosa*) vivant en épibionte sur des algues dans le nord-est du Japon. Ils ont montré que les cellules épithéliales de *C. danilevskii*, *C. subinermis*, et *C. verrucosa* présentent de très nombreuses micro-villosités sur les faces apicales et basales en association avec de nombreuses mitochondries. C'est seulement chez *C. penantis* R-type, qu'ils rapportent la présence de branchies élargies en forme de feuille (voir l'exemple de la Fig. 14C, Chap. 1) avec des cellules en pilier, pauvres en micro-villosités et mitochondries. *Parvipalpus major* ne présentant pas de branchies de ce dernier type, le rôle prépondérant dans les échanges ioniques apparaît donc renforcé par ces résultats récents.

Les échanges gazeux peuvent-ils prendre place directement au niveau du corps de l'animal ? Pour répondre à cette question nous avons réalisé des coupes transversales dans les segments thoraciques 3 et 4 qui sont les plus longs segments de l'animal. Les figures 61C, D présentent deux exemples typiques de ces observations. L'épaisseur de la barrière de diffusion entre l'eau et le milieu intérieur varie entre 5 et 10 μm quel que soit le niveau des coupes. Si on compare ces valeurs avec celles des épithéliums branchiaux citées plus haut, il est clair que la diffusion des gaz O_2 et CO_2 doit s'effectuer de façon préférentielle directement au niveau

des segments corporels plutôt qu'au niveau des branchies. Assimilant le corps de l'animal à un cylindre de diamètre 300-350 μm et de longueur 13 mm (le cas des femelles, Corbari et al, sous presse-b), la surface totale du corps représente environ 14 mm^2 . Dans le cas des mâles qui mesurent en moyenne 22 mm de long, cette surface atteint 24 mm^2 . La surface des branchies, 0,6 mm^2 , ne représente donc que 4 % de la surface corporelle chez les femelles et 2,5 % chez les mâles.

Il est donc évident que la surface du corps est la zone d'échange majoritaire et privilégiée pour assurer les transferts de gaz respiratoire par diffusion chez *Parvipalpus major*.

Les caprellidés possédant un cœur, nous devons donc faire l'hypothèse de l'existence d'une convection interne qui devrait favoriser l'approvisionnement en oxygène des tissus les plus profonds. Cependant la distance entre l'eau et le centre du corps de l'animal, qui n'est que 150-175 μm , est suffisante en elle même pour que la diffusion directe soit considérée comme un mécanisme important dans le bilan des échanges gazeux. D'après les calculs de diffusion développés dans le chapitre 3, cette distance est parfaitement compatible avec un processus de diffusion simple de l' O_2 et du CO_2 pour satisfaire les besoins d'un métabolisme aérobie chez un poïkilotherme vivant à 10 °C.

Le corps étant considéré comme un échangeur gazeux, de quelle manière s'effectue le renouvellement de l'eau à son contact ? Nous avons vu dans le début de ce chapitre que *Parvipalpus*, ancré sur le sédiment, a effectué pendant toute la durée de nos observations des balancements réguliers autour de son point d'ancrage. Ces mouvements ont été interprétés comme dédiés à la recherche de nourriture. En fait, à partir des observations présentes, il semblerait que ces mouvements aient aussi un rôle dans la fonction respiratoire. Nous suggérons qu'ils assurent le renouvellement d'eau au contact du corps : ce comportement peut donc être assimilé à une véritable ventilation. A noter à ce propos que chez *Parvipalpus major* nous n'avons observé aucun appendice ventilatoire du type scaphognathite, comme ceux que nous avons étudiés chez les ostracodes.

Le problème du renouvellement à la surface du corps de *Parvipalpus major* est donc à rapprocher de celui posé par le renouvellement d'eau sur de nombreux échangeurs branchiaux. En fait, l'anatomie de cet animal peut être rapprochée de celle d'un filament branchial d'écrevisse (Dunel-Erb et al., 1982 ; Taylor et Taylor, 1992) qui a la forme d'un

tube dont le diamètre est d'environ 200 μm et la longueur 6 à 10 mm. La vitesse de déplacement linéaire, au niveau de la tête de *Parvipalpus major* (entre 5-10 mm. sec⁻¹) est en fait compatible aux vitesses de déplacement de l'eau mesurées dans les cavités branchiales d'écrevisse (Massabuau, 1983).

Chez l'écrevisse, plus le débit ventilatoire est faible, plus le coefficient d'extraction d'oxygène de l'eau ventilée est important et plus la pression partielle d'oxygène dans l'eau expirée est faible. Ce phénomène est commun chez l'ensemble des animaux étudiés (Dejours, 1981). Il est lié à l'épuisement de l'oxygène dans les couches limites au contact des filaments branchiaux. Par définition, ce processus doit aussi exister au contact du corps de *P. major*. L'observation amène donc à l'hypothèse, que suivant l'importance des balancements de l'animal, des changements d'épaisseur de couche limite à l'interface eau-cuticule devraient exister ainsi que des changements de PO_2 à l'interface eau-cuticule. L'oxygène pénétrant en suivant son gradient de diffusion, PO_2 doit donc être variable dans le milieu intérieur de *P. major* en fonction de l'intensité des mouvements de balancier.

Il existe donc ici probablement un couplage direct entre le niveau d'activité de l'animal, ses besoins métaboliques et le problème de l'approvisionnement en oxygène.

A l'opposé, au cours d'un rythme d'activité, ce mécanisme pourrait aussi permettre à *Parvipalpus major* de moduler son métabolisme oxydatif d'une façon comparable à celle que nous avons proposé chez les myodocopes (Corbari et al., sous-pressé ; Chap. 4) et qui avait été rapporté chez des crustacés décapodes (Ecrevisse *Astacus leptodactylus*, Sakakibara et al., 1987 ; crabe *Carcinus maenas*, Forgue et al., 2001). Une diminution importante des mouvements de balancier du corps de *Parvipalpus major* en période de repos (i.e. une diminution de l'activité ventilatoire) doit aboutir à une diminution de la pression partielle d' O_2 et une augmentation de la pression partielle de CO_2 et une acidification du milieu intérieur. Ces deux paramètres vont alors participer à l'équivalent d'une mise en torpeur du métabolisme cellulaire (Malan, 1993).

En conclusion, *Parvipalpus* possède des branchies de taille réduite ne pouvant intervenir que d'une façon minoritaire dans le bilan de ses échanges gazeux. La majorité de ces échanges doit prendre place au niveau de son corps. Il vit dans un environnement modérément hypoxique (75 % de la saturation par rapport à l'air) et son comportement doit influencer directement l'état d'oxygénation de ses tissus. En effet, les mouvements de balancier qu'il réalise, ancré au sol par ses péréopodes, participent non seulement à son

comportement de recherche de nourriture mais représentent également une véritable ventilation, assurant le renouvellement de l'eau au contact de son "échangeur gazeux corporel".

Dans une optique globale des mécanismes de régulation des échanges gazeux, et de modulation du comportement par O_2 et CO_2 , on doit envisager que ces mécanismes sont analogues à ceux qui avaient été décrit chez les crustacés décapodes et que nous avons décrit chez les myodocopes. Une activité importante doit être associée à une augmentation de PO_2 dans le milieu intérieur et une diminution de PCO_2 . Par contre, au repos, une activité faible doit être associée à une diminution de PO_2 et une augmentation de PCO_2 .

Nos travaux n'apportent néanmoins aucune mesure directe de PO_2 dans le milieu intérieur car l'approche expérimentale est aujourd'hui impossible mais, basé sur des problèmes de diffusion, nos données sont parfaitement compatibles avec l'existence de la stratégie des faibles PO_2 chez *Parvipalpus major*.

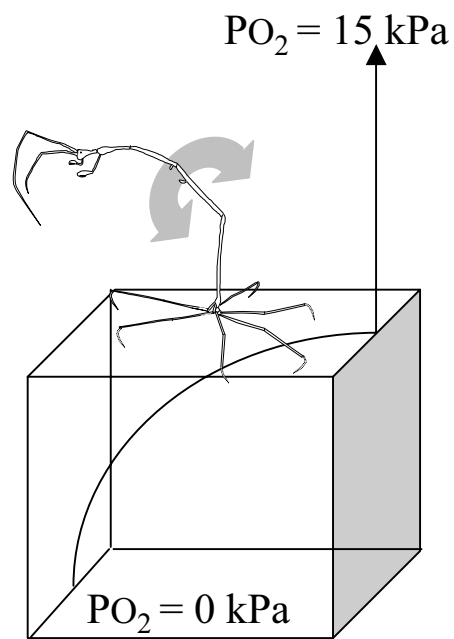


Figure 62: Positionnement du caprellidé *Parvivalpus major* sur l'interface eau-sédiment. Le balancement régulier de *Parvivalpus* est assimilable à une ventilation. L'état d'oxygénation du milieu doit donc varier suivant l'intensité de la ventilation. Une activité importante sera associée à une oxygénation plus élevée du milieu intérieur et *vis versa*.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié dans ce chapitre, le comportement et les principes de base contrôlant les échanges gazeux chez un caprellidé profond, *Parvipalpus major*. Cet animal n'avait jamais été observé intact et vivant jusqu'à présent.

Nos résultats ont révélé un comportement tout à fait particulier :

- *Parvipalpus major* vit ancré, en position verticale, sur les sédiments vaseux grâce à ses péréopodes 5-7, disposés en étoile et permettant un ancrage solide au niveau de l'interface eau-sédiment.

- fixé sur ce point d'ancrage, il se balance dans la colonne à la recherche de nourriture et passe la majorité de son temps à nettoyer la surface de son corps.

- sans apport de nourriture extérieur dans la colonne d'eau, il peut remettre en suspension du sédiment et pratiquer la coprophagie.

- Nous avons interprété l'allongement de son corps, dans le groupe des caprellidés, comme une adaptation à la recherche de nourriture en milieu profond.

L'analyse des caractéristiques morphométriques de ses branchies et des segments principaux de son corps a montré que ses branchies ne représentent en aucun cas un échangeur gazeux efficace. Elles présentent une faible surface d'échange et la distance de diffusion (eau- hémolymphe) est relativement importante (20-30 μm). Elles sont par contre vraisemblablement plus orientées vers les fonctions d'échangeurs ioniques.

La surface du corps et des appendices de *P. major* est de toute évidence une zone préférentielle d'échange de l'O₂ et du CO₂. En effet, l'épaisseur de la cuticule et de l'épithélium sous-jacent est faible. La simple diffusion, la convection par l'activité cardiaque et les mouvements corporels, peuvent rendre compte des échanges gazeux. En parallèle à l'analyse comportementale, nous avons proposé que les mouvements de balancier du corps n'avaient pas seulement un rôle dans la recherche de nourriture mais aussi dans la ventilation de la surface corporelle qui représente ici la surface de l'échangeur gazeux (Fig. 62).

En fait, nous proposons un couplage étroit entre activité, balancements, approvisionnement en oxygène et élimination du CO₂. Dans un tel système, une activité importante est en effet automatiquement associée avec une ventilation importante. Dans cette optique, l'activité de nettoyage prépondérante observée prend une valeur particulière puisqu'il s'agit de nettoyer en permanence l'échangeur gazeux et faciliter les flux entrant et sortant d'O₂ et CO₂.

Chapitre 6

Ostracodes paléo-marqueurs d'oxygénation

Chapitre 6
OSTRACODES, PALEO-MARQUEURS
D'OXYGENATION

INTRODUCTION

RESULTATS

* The oxygenation strategy in the Krithe species (podocopid ostracod) with special emphasis on the vestibule structure

Corbari L, Mesmer-Dudons N, Carbonel P and Massabuau J-C (en préparation pour Paleogeography, Paleoclimatology, Paleocology)

* Cytherella as a tool to reconstruct deep-sea paleo-oxygen levels: the respiratory physiology of the ostracod Platycop *Cytherella cf abyssorum*

Corbari L, Mesmer-Dudons N, Carbonel P and Massabuau J-C (2005) Marine Biology (Soumis)

CONCLUSIONS

INTRODUCTION

La connaissance de la dynamique des climats passés est l'une des clés qui devrait permettre de mieux appréhender l'évolution des climats du futur : ce concept est à l'origine de la paléoclimatologie. Dans cette optique, l'étude des paléo-environnements marins s'intéresse à la caractérisation des changements océaniques tels que les variations du niveau marin et des circulations océaniques liées aux alternances de périodes glaciaires / interglaciaires. L'océan agissant comme un régulateur du climat, son étude contribue à la compréhension de l'évolution de l'atmosphère et du climat terrestre. Un des outils de la paléoclimatologie en océanographie est l'étude des sédiments océaniques et la caractérisation de microfossiles à partir desquels on tente de reconstruire les conditions climatiques à une époque donnée, mais il est aujourd'hui de plus en plus évident qu'un des problèmes majeurs actuels dans cette démarche reste la calibration de ces microfossiles.

Dans cette problématique, les ostracodes ont pris une place particulière durant ces dernières années. Ils sont en effet présents sur terre depuis plus de 500 millions d'années et, avec les diatomées, dinoflagellés, foraminifères et coccolithes, leurs restes fossilisables jouent un rôle fondamental en tant que marqueurs biostratigraphiques, indicateurs paléo-environnementaux et paléo-climatiques.

Parmi les ostracodes, le genre *Krithe* a été en particulier utilisé comme marqueur de la ventilation des fonds océaniques (Peypouquet, 1975, 1977, 1979). L'observation à la base de cette hypothèse est la présence chez ces animaux de la morphologie d'une partie anatomique de la valve appelée vestibule, partie calcifiée de la lamelle interne située dans la partie antérieure de l'animal (voir chapitre 1). Selon les hypothèses actuelles, la variation de la taille du vestibule en fonction des conditions d'oxygénation du milieu ferait du genre *Krithe* un proxy d'oxygénation des fonds océaniques et par cela même un bon outil en paléoclimatologie. La base de cette hypothèse repose sur une corrélation empirique entre la variabilité morphologique du vestibule des *Krithe* et les conditions d'oxygénation de l'eau de fond. Un grand vestibule serait associé à des eaux peu oxygénées et donc peu renouvelées, un petit vestibule à la situation contraire. Il serait donc possible à partir de cette relation d'obtenir des informations concernant la ventilation des fonds océaniques.

Dans une optique similaire, une autre hypothèse a été émise par Whatley (1990), qui se base sur l'affirmation selon laquelle le groupe des Platycopida, Cytherellidae, possède des palettes ventilatoires supplémentaires (scaphognathites) par rapport aux Podocopes, afin de faciliter la circulation de l'eau le long du corps de l'animal mais aussi pour extraire des

particules nutritives (mode de nutrition par filtration ; Cannon, 1933). En partant de cette observation, Whatley a émis l'hypothèse que les Cytherellidae seraient capables de mieux faire face à des niveaux d'oxygénation réduits (hypoxiques) et seraient plus résistants que les autres ostracodes quand la diminution de l'oxygène dans l'eau deviendrait critique (Whatley, 1991, 1995). Par opposition avec l'ensemble des autres podocopes qui sont des détritivores, le mode de nutrition par filtration conférerait donc aux Platycopes un avantage lors d'évènements kénoxiques (Lethiers and Whatley, 1994). Une ventilation plus importante augmenterait leur accès à l'oxygène et de ce fait leur potentiel de survie.

La proportion relative des Platycopes au sein d'une population d'ostracodes est actuellement utilisée pour déterminer les valeurs de paléo-oxygénation des eaux.

C'est dans le contexte de l'étude de la relation ostracode-oxygène que nous nous sommes penchés sur les fondements de ces deux hypothèses. En perspective de nos travaux sur la physiologie respiratoire des ostracodes, nous avons cherché à comprendre quelles pouvaient être les particularités des *Krithe* et des Cytherellidae par rapport à l'ensemble des espèces d'ostracodes précédemment étudiés. Sans remettre en question les travaux et analyses de paléo-océnographie (analyses sédimentaires, micropaléontologie etc...), nous allons apporter dans ce chapitre, des arguments physiologiques, anatomiques et écologiques qui pourront servir de base à la discussion de ces deux hypothèses.

The oxygenation strategy in the *Krithe* (podocopid ostracod) with special emphasis on the vestibule structure

by

Laure Corbari, Nathalie Mesmer-Dudons, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau

En préparation pour Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology

INTRODUCTION

Les ostracodes ont été utilisés dans un premier temps à des fins stratigraphiques, dans la datation des sédiments. L'utilisation de ces animaux en tant qu'outils de datation a conduit à élargir leur domaine d'application aux milieux océaniques. De ce fait, les ostracodes ont été étudiés dans le but de reconstituer les caractéristiques des paléo-environnements océaniques. C'est dans cette optique que le genre *Krithe* a été utilisé en tant que marqueur d'oxygénation des fonds océaniques. A partir de corrélations empiriques, Peypouquet (1975, 1977) énonce l'hypothèse selon laquelle " la grandeur du vestibule et la taille de la lamelle interne du genre *Krithe* (Podocopa) semblent être en relation avec la teneur en O₂ dissous dans l'eau " c'est à dire que plus le milieu est pauvre en oxygène, plus la vestibule est grand et profond, et inversement.

Le vestibule, particularité anatomique des valves d'ostracodes correspond par définition (Van Morkhoven, 1962) à l'espace entre la valve externe calcifiée et la lamelle interne calcifiée. Le vestibule des *Krithe* présente de grands changements de taille et de forme qui sembleraient être en relation directe avec les variations d'oxygénation de l'eau (Peypouquet 1975, 1977, 1979). Au niveau de sa fonction biologique, le vestibule a été interprété en tant que réservoir à oxygène où la présence de " cellules sub-dermales " favoriserait la production de pigments respiratoires de type hémoglobine (Peypouquet, 1979). Les variations de taille du vestibule s'expliqueraient donc, dans un environnement déficitaire en oxygène, par le fait que les *Krithe* auraient besoin de nombreuses cellules sub-dermales pour synthétiser le pigment respiratoire nécessaire au transport d'où la présence d'un vestibule. Néanmoins l'ensemble de ces explications ne se base sur aucune base biologique ou physiologique pouvant corroborer ou invalider cette hypothèse.

Le but de ce travail a été d'appréhender le problème des *Krithe* par une approche de physiologie et d'anatomie morpho-fonctionnelle dans le contexte général de nos études sur les principes de base des capacités d'adaptation ventilatoire chez les ostracodes face à des changements d'oxygénation de l'eau.

Les *Krithe* appartiennent au groupe des podocopes qui sont des ostracodes sans système circulatoire, ni cœur, ni branchies mais assurant le renouvellement de l'eau entre leur valves grâce à une paire d'appendices, les palettes ventilatoires ou scaphognathites. Le tissu sous-valvaire présent au niveau du vestibule antérieur des *Krithe* ne possède pas de structure spécialisée en terme de respiration.

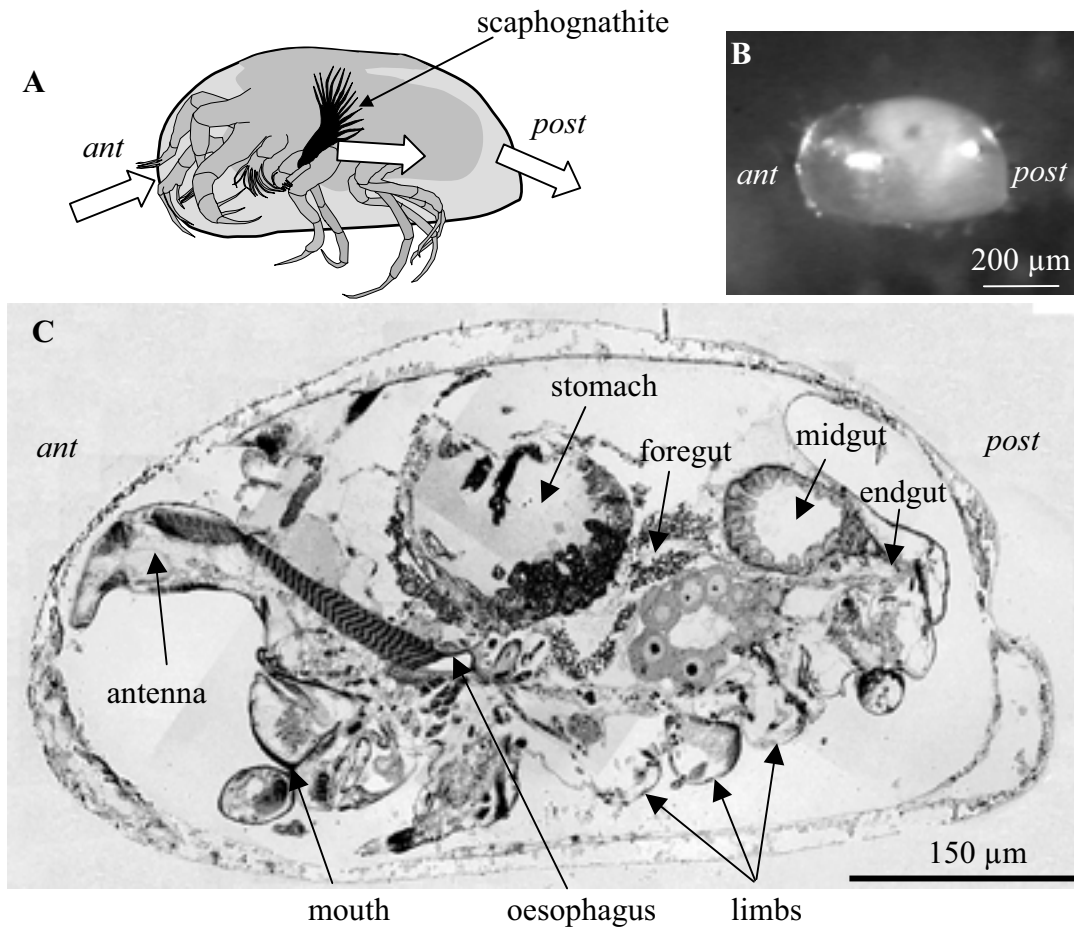


Figure 1 : Morphologie générale des krithes. **A-** Schéma de l'organisation interne d'un individu de krithé. Les scaphognathites (appendice en noir), grâce à leurs battements rythmiques, permettent le renouvellement de l'eau entre les valves. Les flèches indiquent le sens de circulation de l'eau. **B-** Spécimen vivant de krithé dans le dispositif d'analyse vidéo. **C-** Coupe sagittale d'un spécimen de krithé. Les principaux organes sont visibles et on peut noter le suivi du tractus digestif de la bouche à l'anus. Ant, antérieur ; post. Postérieur.

MATERIELS ET METHODES

Protocole d'analyse vidéo

Deux spécimens de *Krithe* ont été étudiés à l'aide d'un dispositif d'analyse vidéo composé d'une loupe binoculaire sur laquelle était fixée une caméra IR (Ikegami CDD Camera, ICD42B). Les échantillons ont été placés sur une platine thermostaté à 9°C en conditions normoxiques ($PO_2 = 21$ kPa). Une série de mesures de fréquences ventilatoire, fR (min^{-1}) a été effectuée dans le but d'une comparaison avec l'étude de la respiration menées sur l'ensemble des groupes d'ostracodes précédemment étudiés.

Etude anatomo-fonctionnelle

Un ensemble de *Krithe* ($n = 5$) a été analysé dans le cadre d'une étude approfondie concernant la partie antérieure de ces formations appelée vestibule. Des spécimens vivants ou morts depuis quelques heures ont été immergés dans un fixateur (glutaraldehyde à 6% tamponné avec une solution de cacodylate de sodium à $0,4 \text{ mmol.l}^{-1}$, $\text{pH} = 7,4$; osmolarité = $1100 \text{ mosmol.l}^{-1}$) pendant 12 h à 4°C puis rincés dans un tampon cacodylate ($0,4 \text{ mmol.l}^{-1}$, NaCl 4 %). Après déshydratation, les ostracodes ont été inclus dans de l'Araldite afin de pouvoir faire différents types de coupes (transversales, sagittales, longitudinales). Les séries de coupes ont été réalisés à l'aide d'un ultra-microtome automatique (Reichert). Les coupes semi-fines obtenues sont alors colorées au bleu de méthylène boraté puis analysées au microscope optique (Leica).

RESULTATS

Anatomie générale et activité ventilatoire

Les *Krithe* appartiennent au groupe des ostracodes podocopes. En terme de respiration, ces derniers ne possèdent ni cœur, ni système circulatoire mais une paire d'appendices spécialisés appelée palettes ventilatoires ou scaphognathites (Fig. 1A). Nos résultats confirment l'absence de système cardiovasculaire et la présence d'appendices ventilatoires. Ces appendices ont un rôle similaire aux scaphognathites présents chez les décapodes permettant le renouvellement d'eau dans la cavité branchiale (Hughes et al., 1969). De même, les battements rythmiques des scaphognathites chez les ostracodes permettent la circulation et le renouvellement de l'eau entre les valves. La circulation de l'eau s'effectue de l'avant de l'animal vers l'arrière (Fig. 1A) comme pour les podocopes et les mydocopes (Corbari et al., 2004 ; Corbari et al., 2005a). Au cours de l'analyse vidéo (Fig. 1B), les fréquences ventilatoires mesurées sur deux individus varient entre 45 et 70 min^{-1} (moyenne

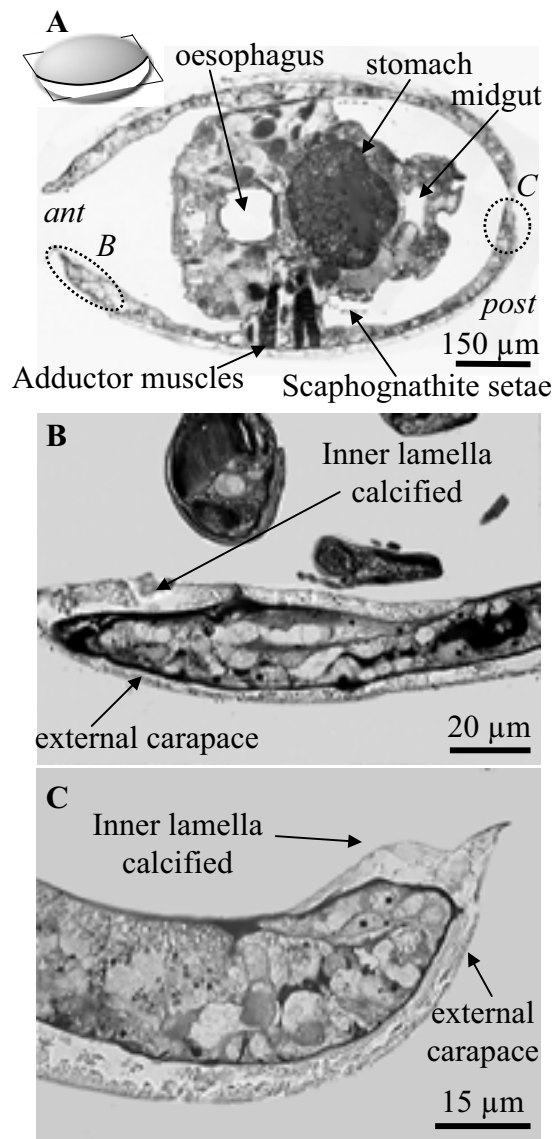


Figure 2 : Localisation des vestibules chez les krithes. **A** - Coupe longitudinale. On retrouve les principaux organes du tractus digestif ainsi que les muscles adducteurs. Les zones en pointillés correspondent aux vestibules antérieur et postérieur. Comparer avec la figure 1C et 2A. **B** - Vestibule antérieur en coupe longitudinale. **C**- Vestibule postérieur en coupe longitudinale. Ant, antérieur ; post. Postérieur.

$58.9 \pm 2.2 \text{ min}^{-1}$). La vitesse de déplacement de l'eau inspirée a pu être enregistrée sur une séquence vidéo par l'analyse de déplacement de particules en suspension. Le mouvement était régulier et a atteint environ 0.1 mm/sec . La figure 1C présente en coupe sagittale l'organisation interne d'un spécimen de *Krithe* avec l'ensemble du tractus digestif ainsi que le positionnement du vestibule au niveau de la partie antérieure de la valve. La distance moyenne de diffusion entre l'eau circulant dans le vestibule et les points les plus distants de la surface du corps étaient $128 \pm 8 \mu\text{m}$ ($n = 10$ mesures) pour un individu moyen d'une longueur totale hors tout de $600 \mu\text{m}$.

Anatomie du vestibule

La figure 2A présente l'anatomie d'un spécimen de *Krithe* en coupe longitudinale sur laquelle le vestibule ainsi que le tissu qui lui est associé est visible dans la partie antérieure. Le tissu au niveau du vestibule correspond à un tissu sous-valvaire. Il recouvre l'intérieur de la valve calcifiée (carapace) et borde la partie calcifiée de la lamelle interne qui forme le vestibule (Fig. 2B). La structure de ce tissu sous-valvaire est de nature indifférenciée et n'est caractéristique d'aucun tissu branchial spécialisé ni d'aucun tissu hématopoïétique connu chez les crustacés (Martin et Hose, 1992). Il est à souligner qu'il n'y a pas de présence de cellules et/ou de structures constituant un tissu respiratoire. De plus, le tissu sous-valvaire chez les *Krithe* est de nature homogène sur l'ensemble des valves comme le montre la figure 2A. Il existe également une lamelle interne calcifiée au niveau postérieur de l'animal (dénommée vestibule postérieur, Coles et al., 1994). Le tissu sous-valvaire au niveau du vestibule postérieur (Fig. 2C) présente également une structure indifférenciée, non-fonctionnelle en terme de respiration, de même nature que le tissu du vestibule antérieur.

Pour illustrer l'absence de spécificité du tissu localisé au niveau des vestibules en tant que tissu respiratoire ou échangeur ionique, la figure 3 présente par comparaison avec le tissu de vestibule de *Krithe* (Fig. 3A), une lamelle respiratoire de crabe vert *Carcinus maenas* (Fig. 3B) et une vue de tissu sous valvaire du myodocope *Vargula hilendorphii* (Fig. 3C). En effet, les ostracodes myodocopes (ex Cypridinidae, *Vargula hilendorphii*) peuvent présenter un tissu sous-valvaire de type respiratoire (Fig. 3C) très comparable à celui d'une branchie de crabe par exemple (Fig. 3B). Les myodocopes par opposition au groupe des podocopes dont les *Krithe* font partie, possèdent un cœur avec un système circulatoire. La vascularisation du tissu sous-valvaire participe dans ce cas de toute évidence à l'approvisionnement en oxygène vers le milieu intérieur et de ce fait peut être caractérisé comme une structure de type branchiale. Les filaments branchiaux du crabe *Carcinus maenas* (Fig. 3B) sont composées

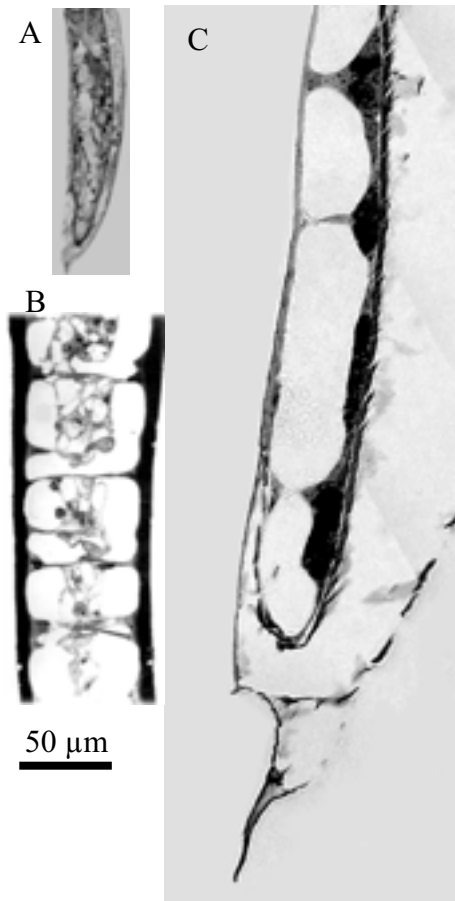


Figure 3 : Vestibule et tissus branchiaux. **A**- Vestibule antérieur en coupe longitudinale de krihe (taille = 600 µm). **B**- Branchies de crabe vert *Carcinus maenas* (taille=10 cm). A noter l'organisation du tissu composé d'une série de lacunes et de cellules piliers. **C**- Tissu sous valvaire chez le myodocope *Vargula hilgendorphii* (partie antérieure de la valve, taille = 3 cm). A noter la similitude d'organisation tissulaire avec les branchies de crabe. Les proportions entre chaque photo ont été respectées.

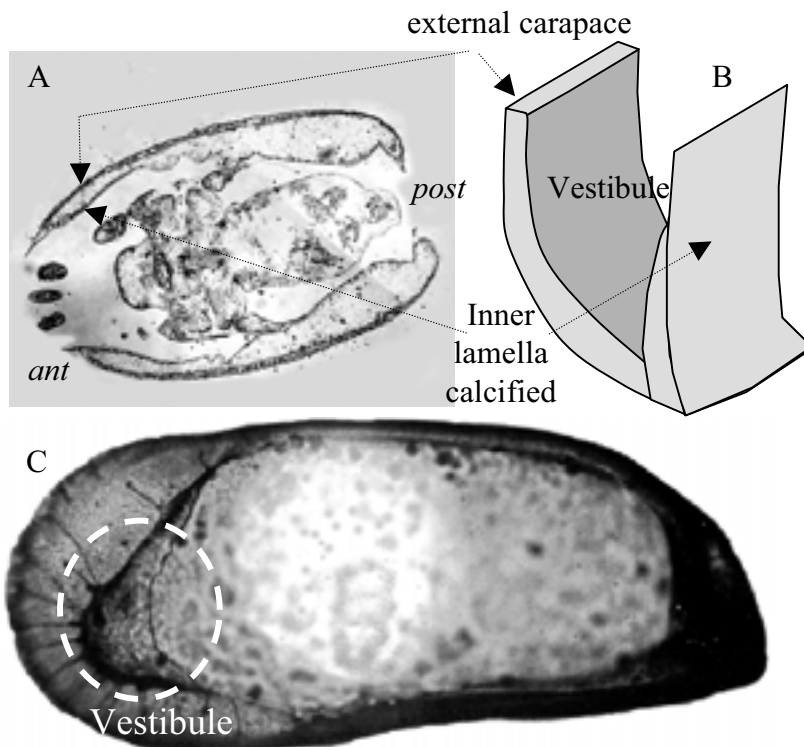


Figure 4 : Vestibules et fossilisation. **A**- Coupe longitudinale d'un spécimen de krihe mort depuis quelques heures. A noter la décomposition totale des tissus sur l'ensemble du corps. **B**- Schéma de principe du vestibule. **C**- Valve droite fossilisée de krihe où le vestibule n'est visible que sous forme d'espace. Ant, antérieur ; post. Postérieur.

d'une série de cellules de type cellules piliers délimitant une série de lacunes et montrent de ce fait une vascularisation effective. A noter finalement que sur la figure 3, toutes les images sont présentées à la même échelle pour faciliter la comparaison des tissus entre eux. En effet, la diffusion d'un gaz au travers d'une membrane ou d'un tissu peut être décrite par la première loi de Fick : $\dot{M}O_2 = S \cdot 1/E \cdot KO_2 (PO_2 \text{ domicile} - PO_2 \text{ cellulaire})$ avec S, la surface de l'échangeur ; E, l'épaisseur de l'échangeur ; KO_2 : la constante de diffusion de Krogh définie selon la nature du tissu de l'échangeur. L'épaisseur des tissus et les distances de diffusion sont donc des paramètres clés en terme de diffusion. La photo de vestibule de *Krithe* provient d'un individu mesurant environ 600 μm de long alors que la taille moyenne de *Vargula* est de 3 mm. il est clair que la structure et l'organisation du tissu présent dans le vestibule ne présente aucune apparence d'un tissu échangeur de gaz.

Structure fossilisée du vestibule

Selon sa définition, le vestibule, espace entre la valve et la lamelle interne calcifiée, est rempli par un tissu sous valvaire de nature indifférenciée. Il est donc intéressant de voir que le vestibule observé sur les spécimens vivants de *Krithe* (figures précédentes) ne correspond pas à la structure vide observée sur les échantillons fossiles analysés en paléocéanographie. En fixant pour une étude anatomo-fonctionnelle des animaux morts depuis quelques heures, nous avons donc appréhendé la cinétique de formation de la structure creuse habituellement décrite. La figure 4A montre comment l'étape de dégradation des tissus qui suit la mort de l'animal conduit à l'obtention de cet espace définissant le vestibule.

Un spécimen de *Krithe* mort depuis quelques heures a été analysé et l'anatomie générale (en coupe longitudinale) révèle l'exosquelette de l'animal. Le tissu sous valvaire dégradé libère alors un espace correspondant au vestibule (Fig. 4B). Lors des analyses des valves fossiles de *Krithe*, le vestibule correspond donc à une sorte de cavité délimitée par la valve externe et la lamelle interne (Fig. 4C).

DISCUSSION

Comparaison avec les précédentes études

L'utilisation des *Krithe* en tant que paléo-indicateurs de la ventilation des fonds océaniques a fait l'objet de nombreuses controverses dans la littérature. De nombreux auteurs ont tenté de réfuter l'hypothèse de Peypouquet (McKenzie *et al.*, 1989 ; Zhou et Ikeya, 1992 ; Whatley & Zhao, 1993 ; Coles *et al.*, 1994 ; Van Harten, 1996 ; Zhao et Whatley, 1997) et ont cherché à tester, à partir d'analyse de données sédimentaires et paléo-environnementales,

l'efficacité du paléo-marqueur *Krithe*. Ces auteurs n'ont pas réussi à mettre en évidence de relation directe entre le vestibule des *Krithe* et l'oxygénation de l'eau. Néanmoins ils n'ont pas proposé d'autres hypothèses explicatives sur les bases de cette relation, ni d'autres applications du modèle *Krithe*. Rodriguez et Cronin (1999) adhèrent au manque de corrélation entre la taille du vestibule des *Krithe* et les variations d'oxygène du milieu mais proposent plutôt une relation liant la température de l'eau de fond à la taille des *Krithe*. Van Harten (1995) a proposé une hypothèse alternative en suggérant que la taille du vestibule pourrait être liée à l'existence d'une zone sensorielle permettant notamment la détection de nourriture. Mais aucun auteur n'a abordé expérimentalement la cause biologique des changements morphologiques du vestibule des *Krithe*. Majoran et al. (2000) grâce à l'élevage d'ostracodes, dont l'espèce *Krithe praetexta praetexta* issus du fjord de Gullmar en Suède (40 m de profondeur), ont émis l'hypothèse que l'augmentation de la température diminuerait la taille des *Krithe* mais aussi d'autres espèces telles que *Robertsonites tuberculatus* et *Palmoconcha guttata*. Mais ces auteurs ne concluent pas sur la possible relation entre le vestibule et l'oxygénation de l'eau.

Nature du vestibule

Selon Van Morkhoven (1962), la définition du vestibule correspond à l'espace entre la lamelle externe (valve externe calcifiée) et la lamelle interne. Il existe également une partie calcifiée de la lamelle interne au niveau de la partie postérieure de la valve des *Krithe* dénommée vestibule postérieur. Néanmoins la relation taille du vestibule-oxygène n'a été corrélée que pour le vestibule antérieur. Si le vestibule antérieur possédait une fonction physiologique, on peut penser que le vestibule postérieur aurait sans doute la même fonction, néanmoins aucune corrélation n'a été établie entre la taille du vestibule postérieur et l'oxygénation de l'eau. De plus, le vestibule n'est pas uniquement présent chez les *Krithe* mais chez un grand nombre d'ostracodes podocopes comme les genres *Leptocythere*, *Argilloecia* et *Candona* (Coles et al., 1994 ; Cohen, 1982).

Finalement, l'ensemble des études décrivant le vestibule s'attarde sur l'espace créé par la calcification de la lamelle interne d'où le rôle de réservoir à oxygène attribué au vestibule (Peypouquet, 1979). A partir de l'analyse de l'anatomie du vestibule des *Krithe*, il est évident que le vestibule ne correspond pas à une structure creuse lorsque l'animal est vivant comme le présentent les figures 1C, 2B et 3A. La présence du tissu sous valvaire conduit à affirmer que ce n'est que lors de la dégradation de ce tissu (Fig. 3A), au moment de la mort de l'animal, que l'espace dénommé vestibule apparaît et correspond à ce qu'observent les micro-

paléontologues sur les valves fossiles. La notion d'espace ou de réservoir au niveau de la partie antérieure de la valve n'a aucune réalité biologique.

Dans la littérature, il existe quelques études sur la structure des valves et de la lamelle interne chez les ostracodes. Okada (1982) a étudié chez l'espèce *Bicornucythere bisanensis* (Podocope) la structure des valves ainsi que du tissu sous-valvaire. Il montre l'existence de cellules de type amiboïde composant le tissu sous-valvaire, de nature similaire à celui observé chez les *Krithe*. La nature de ce tissu ne laisse pas augurer de sa fonction dans la respiration. L'étude de Keyser (1990) plus spécifique sur la nature de la lamelle interne chez différentes espèces d'ostracodes (par exemple parmi les podocopes *Cyprideis torosa*, *Loxoconcha elliptica*, *Cytherissa lacustris*) démontre là encore la présence de nombreuses cellules riches en mitochondries au niveau du tissu sous-valvaire. Ce tissu aurait donc peut-être une fonction non pas dans la respiration mais plutôt dans l'osmorégulation et dans l'ionorégulation de l'animal. Les capacités d'osmorégulation chez les ostracodes (Aladin, 1993 ; Aladin et Potts, 1996 ; Harris et Aladin, 1998) seraient donc dépendantes du fonctionnement des cellules au niveau du tissu sous-valvaire. A partir de l'ensemble de ces études, le tissu sous-valvaire étudié chez différentes espèces d'ostracodes n'a en aucun cas été cité comme ayant une fonction dans la respiration ou encore l'approvisionnement en oxygène vers les cellules. De part sa structure et nature, ce tissu ne semble pas avoir de rôle dans la respiration, ni dans la synthèse de cellules sanguines.

Stratégie adaptative de régulation de l'oxygène chez les Krithe

L'approvisionnement en oxygène vers le milieu intérieur chez les ostracodes et plus particulièrement chez les podocopes est effectué par la ventilation. L'étape ventilatoire est décisive pour le renouvellement et l'approvisionnement en oxygène vers les tissus. Les fréquences ventilatoires mesurées chez les *Krithe* sont du même ordre de grandeur que l'ensemble des 6 espèces de podocopes dont la physiologie respiratoire a déjà été étudiée (Corbari et al., 2004). Dans cette étude, il a été démontré que les podocopes régulaient l'oxygénation de leur tissus par une adaptation comportementale, en migrant dans le gradient d'oxygène du sédiment dans lequel ils vivent (mode de vie endobenthique). Les podocopes se positionnent préférentiellement à de faibles niveaux d'oxygénation situées entre 3-5 kPa (Corbari et al., 2004). Cette stratégie d'adaptation concerne différentes espèces (*Cytherella lata*, *Argilloecia conoidea*, *Cytheropteron alatum*) qui vivent dans le même écosystème profond que les *Krithe*. Nous proposons donc l'hypothèse que les *Krithe*, podocopes profonds

et endobenthiques, pourraient posséder les mêmes capacités d'adaptation et réguleraient également l'oxygénation de leurs tissus en migrant dans le gradient d'oxygénation du sédiment. Le maintien du milieu intérieur et des cellules à de faibles niveaux d'oxygénation correspond à la stratégie adoptée par la majorité des animaux aquatiques (crustacés, poissons, mollusques) mais aussi dans le contexte évolutif de la stratégie des faibles oxygénation, pour l'ensemble des organismes vivants terrestres et aquatiques (Massabuau, 2001, 2003).

En conclusion, nos résultats n'apportent aucun argument en faveur d'un rôle directement lié à la fonction respiratoire du vestibule des *Krithe*. Il faut également noter que nos travaux n'apportent aucune argument niant la relation entre taille du vestibule et oxygénation des fonds marins. Néanmoins, nous suggérons ci-dessous un aspect physiologique fondamental de la relation entre les mécanismes d'approvisionnement en oxygène et les *Krithe* qui avait été complètement ignoré jusqu'à présent.

Il n'existe pas de fonction biologique du vestibule qui corresponde à une ornementation ou à une particularité de l'exosquelette des *Krithe*. Néanmoins il est possible d'imaginer une relation indirecte entre la calcification de la lamelle interne et les propriétés physico-chimiques de l'eau. Nous proposons une hypothèse alternative avec la présence spécifique d'un épaissement, sur une des pièces buccales ou antennes (Fig. 2B) qui viendrait frotter au niveau du vestibule. Nous suggérons que s'il existe une relation entre taille du vestibule des *Krithe* et oxygénation, celle ci pourrait se faire par l'intermédiaire de l'apport trophique et la nutrition. En effet, dans les milieux océaniques profonds, la diminution de l'oxygénation est souvent liée à une augmentation de la matière organique. Dans un milieu plus riche en nourriture, les pièces buccales pourraient donc être plus actives et les frottements plus fréquents. Cette augmentation d'activité pourrait alors aboutir à une augmentation de l'épaisseur et de la surface de la structure calcifiée fermant la face interne du vestibule de façon à protéger les tissus sous-jacents d'une lésion mécanique.

Cytherella as a tool to reconstruct deep-sea paleo-oxygen levels: the respiratory physiology of the ostracod *Platycop Cytherella cf abyssorum*

By

Laure Corbari, Nathalie Mesmer-Dudons, Pierre Carbonel and Jean-Charles Massabuau

(2005) *Marine Biology*, Soumis

ABSTRACT: The reconstruction of past climates is a major challenge. One approach is the use of paleoceanography, which looks for clues to the past activity of deep-sea currents by associating them with the melting of the poles. In different sampling zones fossil biomarkers are used to reconstruct the oxygenation levels of the sea bottom. The idea is that a well oxygenated deep-sea bottom is the result of a deep active current and vice-versa. Among the ostracods (crustaceans), the Cytherellidae family is considered to be resistant to significant decreases in oxygen and their fossil valves are used as biomarkers for oxygenation levels in the past. We studied the basic principles behind *Cytherella cf abyssorum*'s ability to adapt to variations in water oxygenation levels to try and determine what could differentiate it from other ostracods. *C. cf abyssorum* has an activity level and ventilatory frequency that is only half that of ostracods studied previously. When subjected to a decrease in oxygenation, it demonstrates the beginnings of ventilatory adaptation which is unknown in the other studied ostracods. Some morpho-functional aspects are also remarkable, such as the presence of thick valves, which can close hermetically by means of powerful adductor muscles. Compared with already studied ostracods, *C. cf abyssorum* therefore has characteristics which suggest an ability to present increased resistance in hypoxia. We discuss these results in the paleoceanographical context by describing a scenario suggesting why an increased proportion of the ostracod population could indicate the existence of ocean bottoms with low oxygenation.

INTRODUCTION

The reconstruction of past climates is a major challenge. One approach is the use of paleoceanography, which looks for clues to the past activity of deep-sea currents by associating them with the melting of the poles. In different sampling zones fossil biomarkers are used to reconstruct the oxygenation levels of the sea bottom. The idea is that a well oxygenated deep-sea bottom can reveal the existence of deep active currents caused by global warming and vice-versa. Among the ostracods, which are millimetric-size crustaceans, the family of Cytherellidae (Platycopa), and more specifically deep-water species such as the genus *Cytherella*, is believed to include ostracods that are resistant to large decreases in water oxygenation levels. This hypothesis put forward by Whatley (1990, 1991) states that the Cytherellidae, because they feed by filtration, ventilate large volumes of water to obtain their food and thus achieve a maximum and optimal state of oxygenation. It is this particular feature that would give them a better resistance to oxygenation levels compared with other ostracods. Indeed, Cannon (1933), by comparison to the other ostracods, reported that they are equipped with extra ventilatory plates (equivalent to scaphognathites) which enable them to displace a greater volume of water mainly for the purpose of retrieving food. In the same article, Cannon also reported that the anterior plates are transformed into filters, which means that these small crustaceans can be closely compared with filtering animals, well-known for their high rates of ventilatory activity. It is important to note that, if this were the case, gas exchanges (O_2 and CO_2) should vary passively – as a dependent variable – following changes in feeding particle concentration and food requirements. Whatley considered that all these characteristics gave an anatomico-physiological advantage, favouring the uptake of oxygen, which would explain why, in paleo-environments with little oxygen, there was a greater proportion of Cytherellidae in the ostracod populations. Several studies and correlations between the composition of ostracod assemblages and water oxygenation indexes in paleo-environments (Lethiers and Whatley, 1994, 1995; Whatley, 1995) have resulted in the establishment of a calibration between the percentage of Cytherellidae in a population of ostracods and the oxygen content of the water (Whatley et al., 2003). This calibration is the basis for using Platycops as paleo-markers for oxygenation in the water, since the appearance of this group in the Paleozoic (about 450 MY).

Nevertheless, in terms of biology and respiratory physiology, it is clear that the main basis for Whatley's hypothesis is, firstly, anatomical observations and secondly, correlations between paleo-environmental data, with no direct study having been carried out to provide experimental arguments as to the adaptation capacities of the Cytherellidae group when

oxygen levels in the water are reduced. We have therefore developed a fundamental approach to respiratory physiology to give a better understanding of why and how the deep-water *Cytherella* could be more resistant in hypoxic conditions compared with other ostracods.

Our study is based on an eco-physiological and morpho-functional approach to the species *Cytherella cf abyssorum* (Platycopa, Cytherellidae). Platycops, like Podocops, have no heart, no circulatory system and no gills but it was reported that they do have a series of three pairs of ventilatory plates to carry out ventilatory activity ("each of the first three limbs behind the mouth, which I called maxillule, maxillae and first trunk limb, possesses a vibratory plate", Cannon, 1933). They are benthic animals. We demonstrate that, unlike the Podocops (Corbari et al., 2004) and Myodocops (Corbari et al., 2005a) we previously studied, the Platycops present a different ventilatory behaviour when confronted with changes in the oxygenation of the water, which can be interpreted as a rudimentary ventilatory adaptation. Moreover, an anatomical study of *C. cf abyssorum* has revealed a closure mechanism that "hermetically" seals the valves and can be interpreted as characteristic of a form of resistance to an adverse environment of the "wait and see" type, which is far superior to that of other known ostracods.

MATERIALS AND METHODS

A total of 22 live specimens of the species *Cytherella cf abyssorum* (Platycopa, Cytherellidae) were analysed. The specimens were collected in the Bay of Biscay during Oxybent-Sedican missions in May 1999 and April 2000. The animals were collected using a Macer-Giroq type suprabenthic sledge (Dauvin et al., 1995) from muddy sediment at a depth of between 550 to 1000 meters. The exact sampling locations were: 43°50'N-2°03,22'W, 29/04/2000, 552 m; 43°36'N-1°47,982'W, 23/06/2001, 761 m; 44°09,78'N-2°20,27'W, 24/06/2001, 1000 m). In the Bay of Biscay, the species face a temperature ranging from 10-11.8 °C (Ogawa and Tauzin, 1973; Sorbe, 1991; Corbari and Sorbe, 2001). According to Hyacinthe et al. (2001), the partial pressure of oxygen within about 20 cm above the sampling site was in the range 14-16 kPa. For reference, 1 kPa = 7.5 mm Hg. In water equilibrated with air, the O₂ fraction is ≈ 21 % and PO₂ = 21 kPa. At 10°C, the corresponding O₂ concentration is ≈11.2 mg/L or 282 μmol.L⁻¹.

Maintenance:

No attempt was made to maintain the animals under hyperbaric conditions, *i.e.* to mimic *in situ* hydrostatic pressure, but a temperature of 10°C was systematically kept constant from sample collection to laboratory observations (see Corbari et al., 2005b, for

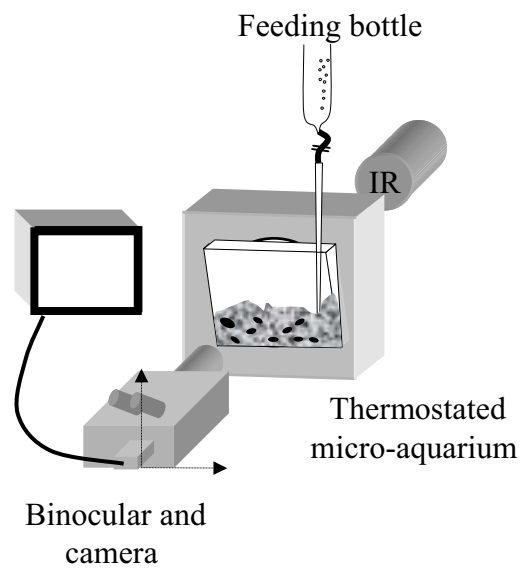


Figure 1: Experimental video analysis equipment to study ventilation in *Cytherella abyssorum*. The animals were placed in the micro-aquarium, in a vertical position, with their original sediment. Their ventilatory activity was then measured visually under infra-red light. The equipment was placed in a darkened room and was protected from vibration on anti-vibration tables.

explanations). They were kept on board for between 1 to 3 days in thermostated tanks regulated at 10 °C. At the end of the cruise, specimens were transferred within 1.5-2 hours to thermostated tanks in the laboratory in the Marine Biological Station, Arcachon, France. After arriving in the laboratory facilities, the *Cytherella cf abyssorum* specimens (size \approx 0.8-1 mm) were placed in holding aquariums in the laboratory with their original sediment in a climatized thermostatically controlled chamber at 10°C. They were kept in sea water equilibrated with the air, which was constantly renewed (PO_2 in the water \approx 21 kPa). The animals were acclimated in the laboratory for a minimum of one month before experiments were begun and they were maintained in the experimental aquariums for between 3 and 8 weeks.

Study of ventilation by video analysis:

This set of experiments consisted of studying the ventilatory activity of the species *Cytherella cf abyssorum* exposed to different levels of oxygenation by visual observation. The animals were placed in a video-analysis experimental equipment (Fig. 1) at least one week before measurements were begun. All observations were carried out under infra-red light and ventilation analysis was measured visually, by counting the beats of the scaphognathites, visible through the animal's transparent valves after or during video recording. All video observations were carried out under dim light using infrared light ($\lambda = 880$ nm) to limit any disturbance to the animals. Recordings were made using an X-Y driven Leitz MZ12 binocular microscope equipped with a B/W Ikegami camera (CDD Camera, ICD42B). Data were displayed on a Sony TV monitor (HR Trinitron PVM 1453MD). They could be either analysed on-line and/or stored on a JVC tape recorder (S-VHS, HRS75000MS) or a Panasonic tape recorder (VHS, NV/SD45). As the animals were motionless on only exceptional occasions, no attempt was made to use any automatic frequency counting device.

Experimental equipment: The animals were placed in a micro-aquarium with their original sediment (Fig.1A; volume = 500 μ L; 2 cm x 2 cm; thickness, 0-3 mm; water renewal = 10-20 μ L.min⁻¹). This aquarium was prepared manually, using a microscope slide fixed in place with Sylgard (Down Corning) on a glass plate thermostatically controlled at 10 °C by the Peltier effect (laboratory made electronic device). In this environment, the animals could move about freely and burrow in the sediment. Importantly, this aquarium was placed on an antivibrating bench, mass \approx 250 kg while the video-camera and the microscope were fixed on a second table, fully independent of the former one, and the micro-IR spotlight was placed on

a third one. During experiments, partial oxygen pressure, PO_2 , varied from 1 to 21 kPa. Partial CO_2 pressure, PCO_2 , was kept constant at 0.1 kPa; pH was 7.9-8.0 for a titrable alkalinity of 1.8-2.0 meq. L^{-1} . The gas mixture ($N_2 / CO_2 / O_2$) bubbled in from supply bottles was constant and monitored with mass flow controllers (Tylan General Model FC-260) driven by a programmable control unit produced in the laboratory.

Two types of experiment were carried out with this equipment: ventilatory activity response during exposures of two hours at different PO_2 between 1-21 kPa, and ventilatory mode response during exposures of 2-3 days at 3 kPa.

Exposure for two hours at different oxygenation levels: This experiment was carried out on a group of 7 individuals (put in place at t_0) after a period of 7 days to adapt to the equipment. The specimens were exposed to 8 different levels of PO_2 : 21 (reference, ref), 10, 6, 4, 3, 2, 1 and 21 (recovery, rec) kPa. Each exposure period was two hours and ventilatory activity was measured during the last 30 minutes before the end of the exposure plateau. All the animals were individually recognisable by characteristic markings on their valves and by their position in the aquarium. During the exposure period they were selected in random order and their ventilatory frequency (FR, min^{-1}) was studied for one minute for each animal.

Exposure for 2-3 days at $PO_2 = 3$ kPa: This experiment was carried out on a group of 5 individuals. The reference ventilatory mode was measured for 3 days in normoxia after a period of 8 days to adapt to the equipment (from t_8 to t_{10}). Partial O_2 pressure was 21 kPa, ($CO_2 = 282 \mu mol.L^{-1}$) and then followed 3 days in hypoxic conditions (from t_{11} to t_{13} ; $PO_2 = 3$ kPa, $CO_2 = 40 \mu mol.L^{-1}$). The experimental protocol consisted of measuring ventilatory activity in each individual for one hour at 21 kPa (t_{9-10}) and 3 kPa (t_{12-13}). For each animal, several different ventilatory parameters were analysed: the number of ventilatory bouts (h⁻¹), their average duration (min.h⁻¹), the length of time during which the animal was ventilating (min.h⁻¹) and the number of bouts (h⁻¹) during one hour of analysis. Ventilatory frequency in the bouts, fr (min^{-1}) and the percentage of animals (%) presenting no ventilatory activity were also determined

Morpho-functional analysis:

This study was carried out on 10 individuals. Live animals were immersed in a fixing solution (glutaraldehyde at 6% buffered with a sodium cacodylate solution at 0.4 mmol.l⁻¹, pH = 7.4; osmolarity = 1100 mosmol. l⁻¹) for 12 h at 4°C then rinsed in a cacodylate buffer (0.4 mmol.l⁻¹, NaCl 4 %). After dehydration, the ostracods were embedded in Araldite in order to prepare different types of semi-fine sections (transversal, sagittal, longitudinal) using an automatic ultra-microtome (Reichert). These sections were stained blue with borate methylene before

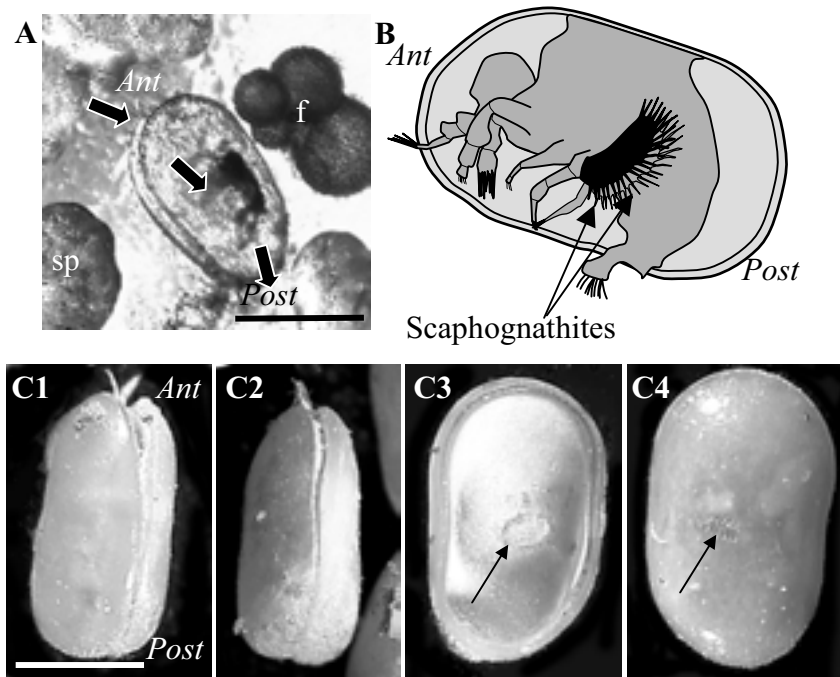


Figure 2: Anatomy of *Cytherella abyssorum*. A- Image in-situ in the micro-aquarium. Arrows indicate the direction of water circulation during ventilation. B-Diagram of the internal organisation of *C. abyssorum* (left valve removed). Ant, anterior; Post, posterior; sp, grains of sand; f, foraminifer; C1-2, ventral and dorsal view of dead, and dehydrated, individuals. C3-4, Internal and external view of *C. abyssorum* valves. Arrow, muscular scar. Scale = 500 μm .

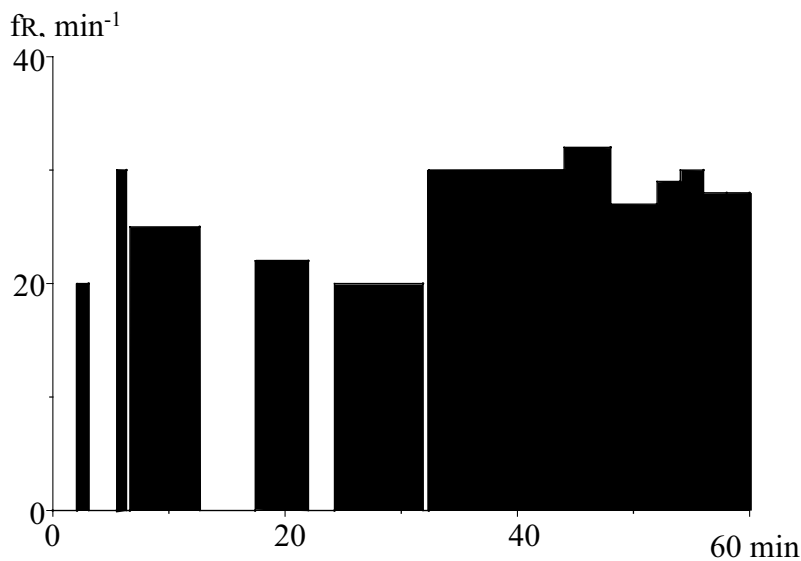


Figure 3: Mode of ventilation (fR, respiratory frequency) typical of *Cytherella abyssorum*, during a 1-hour observation in normoxic conditions ($\text{PO}_2 = 21 \text{ kPa}$). Ventilatory activity consists of alternating phases of active ventilation (bouts) and halts in ventilation (pauses or apnoeas) of varying durations.

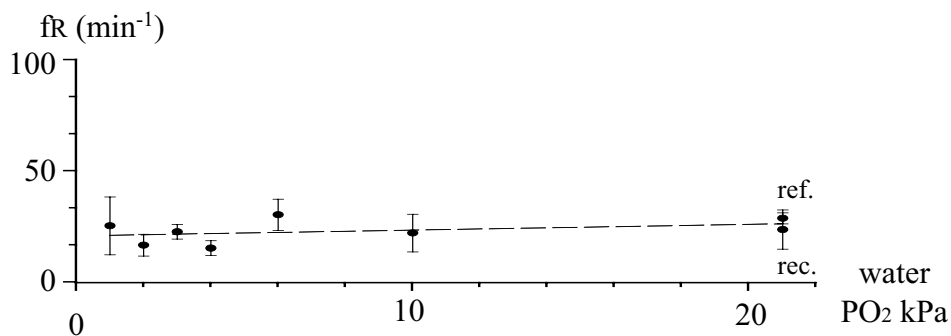


Figure 4: Relationship between ventilatory frequency in the ventilation bouts (fR) and partial O_2 pressure (PO_2) in *Cytherella abyssorum*. 2-hour exposure periods in the following order 21(ref), 10, 6, 4, 3, 2, 1, 21 (rec). Mean \pm 1 SEM, $n = 7$. No significant difference was observed in relation to PO_2 .

analysis under an optic microscope (Leica). Dead and dry animals as well as empty valves were observed under a Leitz MZ12 binocular microscope.

RESULTS

During the experiments, all the individuals were observed to move along the water-sediment interface and/or in the sediment, at a speed of 0.5 to 1 mm.min⁻¹. The circulation of the water *i.e.* the ventilation between the animal's valves, which was visible because of the movement of the sediment particles, is from front to back (Fig. 2A). The water circulates as a result of rhythmic movements of the ventilatory plates (Cannon, 1933; Fig. 2B). The ventilatory movements are analogous to those observed in the green crab *Carcinus maenas* (Hughes et al., 1969) or the crayfish *Astacus leptodactylus* (Massabuau, 1983). However, we never observed the beating of the three series of ventilatory plates as described by Cannon (1933). We observed only the beating of a single pair of plates, or scaphognathite, the same as in Podocops (Corbari et al., 2004) and Mydocops (Corbari et al., 2005a). Fig 2 C₁₋₂ present ventral and dorsal views of dead, and incidentally dehydrated, animals and Fig 2 C₃₋₄, inner and outer views of empty valves used to determine the animal name.

Figure 3 illustrates the variability of ventilation in a typical specimen at rest and in normoxic conditions over an observation period of one hour. The ventilatory mode is characterised by bouts of ventilation of varying durations and intensities, punctuated by pauses or apnea, also of varying durations. None of the individuals we studied stopped ventilating for an entire hour, the longest period observed being 28 min. Average ventilatory activity in normoxia is shown in Table 1. A PO₂ = 21 kPa, where the average number of bouts is $6 \pm 2 \text{ h}^{-1}$ (min-max, 2 - 10 h⁻¹; n = 28 bouts in 5 animals) and animals ventilated, on average, for 41 ± 3 minutes per hour (min-max, 32 - 48 min.h⁻¹). Finally, during bouts of ventilation, average ventilatory activity was 21 ± 3 beats per minute (min-max, 14 - 26 min⁻¹).

The existence of mechanisms to regulate ventilatory activity was then tested in 2-hour exposure periods at different PO₂ levels. These results are shown in figure 4. There are no significant differences between ventilatory frequencies (fR, min⁻¹) in hypoxic conditions ($1 \leq \text{PO}_2 \leq 10 \text{ kPa}$), and those measured during normoxia (ANOVA, $F_{7, 23} = 0.82$; $p < 0.58$). The relationship between ventilatory frequency and PO₂ in the water was: $\text{fR} = 0.25 \text{ PO}_2 + 20.60$ ($r^2 = 0.16$, $p < 0.33$). For the percentage of animals not ventilating at the moment measurements were being recorded, the average number was $35 \pm 4 \%$ (min, 14 % at 3 kPa and max, 50 % at 21 and 1 kPa). Finally, visual inspection of the beating amplitude never

21 kPa					3 kPa				
Burst					Burst				
number	mean duration	total duration	fR	beat number	number	mean duration	total duration	fR	beat number
(h ⁻¹)	(min·h ⁻¹)	(min·h ⁻¹)	(min ⁻¹)	(h ⁻¹)	(h ⁻¹)	(min·h ⁻¹)	(min·h ⁻¹)	(min ⁻¹)	(h ⁻¹)
6 ± 2	10 ± 3	41 ± 3	21 ± 3	867 ± 203	1 ± 0*	58 ± 1*	58 ± 1*	11 ± 3*	635 ± 91

Tableau 1: Characterisation of ventilation during exposures of 2-3 days at PO₂ = 21 and 3 kPa in *Cytherella abyssorum*. Data obtained by complete analysis of a period of one hour per individual (see Fig. 3). Number, number of bouts; mean duration, average duration of a bout; total duration, total duration of bouts; fR, ventilatory frequency in the bout; beat number, total number of ventilatory beats per hour. Average ± 1 SEM, n = 5 individuals. In hypoxia, the total number of ventilatory beats per hour does not decrease significantly, despite the decrease in ventilatory frequency, thanks to a reduction in the periods of ventilatory pauses. *, p < 0.05.

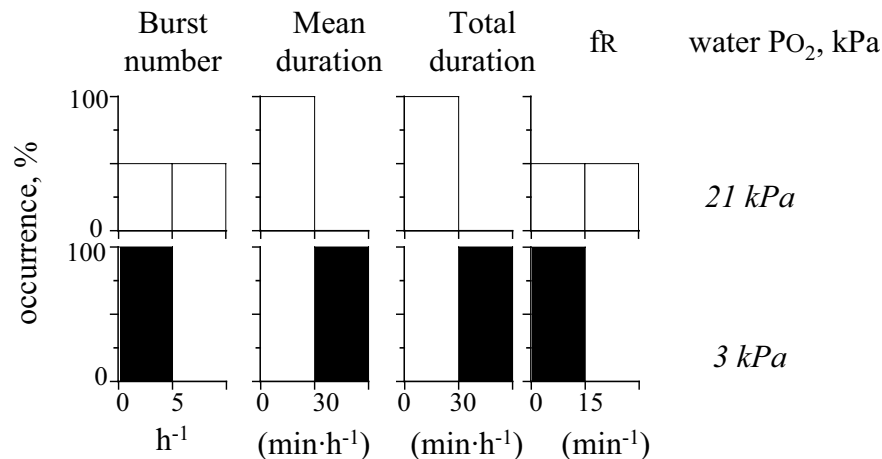


Figure 5: Details of ventilatory characteristics during exposures of 2-3 days at PO₂ = 21 and 3 kPa in *Cytherella abyssorum* (n = 5). Bout number, number of bouts; Mean duration, average duration of a bout; Total duration, total duration of bouts; fR, ventilatory frequency in the bout. In hypoxia, ventilation varies less and respiratory frequencies are slower.

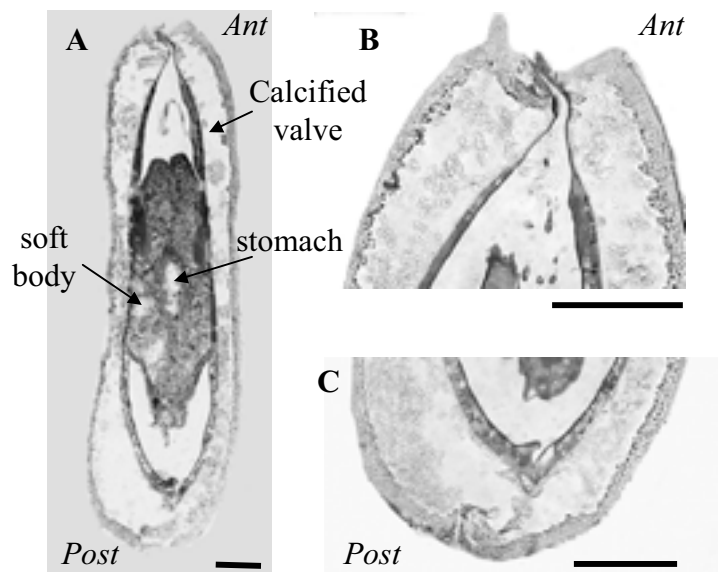


Figure 6: Morpho-functional anatomy of *Cytherella abyssorum*. A- general view, upper longitudinal section, upper third of the animal. B - Detail of anterior closure. C - Longitudinal section, detail of posterior closure. Note the solid appearance of the valves and the hermetic sealing system. Longitudinal sections. Ant, anterior; Post, posterior; d, dorsal; v, ventral. Scale, 100 µm.

suggested any change of stroke volume, that is the volume of water displaced with each ventilatory beat, at different levels of oxygenation. Overall, no statistically significant change in ventilatory activity was observed during these 2-hour exposures, which clearly suggests an absence of ability to maintain oxygen intake by ventilatory activity in the short term. In order to prove or disprove such an ability for longer exposure periods, we exposed another group of animals to $PO_2 = 3$ kPa for 48-72 hours. These results are presented in Table 1 (hypoxia = 3 kPa). It is interesting to see that all the animals, with the exception of one individual, ventilated continuously at 3 kPa (total duration of ventilatory activity per hour significantly different from reference values, $p = 0.002$) with no notable change in the degree to which the valves were open. In comparison with the normoxic reference, average duration of the bouts was statistically greater ($p = 0.001$), and they decreased in number ($p = 0.038$). On the other hand, ventilatory frequency at 3 kPa also decreased by a factor of 2 ($p = 0.05$) compared with reference values for normoxia. It is remarkable to see that the result of increasing the duration of ventilatory activity compensates for this decrease in ventilatory frequency. In fact the number of ventilatory beats per hour did not appear to be significantly different between the two conditions ($p = 0.33$). Figure 5 shows the change in distribution of the different parameters measured. Contrary to what was reported in the case of Podocops (Corbari et al., 2004) and Myodocops (Corbari et al., 2005a), it is clear that the decrease in PO_2 affects ventilation in the Platycop *Cytherella cf abyssorum*. In hypoxia at 3 kPa, ventilatory frequency decreased and ventilation passed from an unpredictable discontinuous mode to a continuous mode. These initial observations therefore indicate that the Platycop *Cytherella cf abyssorum* differs from the Podocops which, according to Whatley's hypothesis (1990-1991), would be the first to disappear in hypoxic environments. To take the analysis a stage further, we next looked to see if *Cytherella cf abyssorum* presented any remarkable morpho-functional particularities that could also contribute to these behavioural differences.

Figure 6A shows a longitudinal section characteristic of a specimen of *C. cf abyssorum* (size $\approx 800 \mu\text{m}$). The morphology is characterised by a considerable thickening of the calcified valves which may reach or exceed a maximal size of $100 \mu\text{m}$ (minimum, $30 \mu\text{m}$). Moreover, at the place where the valves meet they have an unusual morphology with a specific type of closure which appears to be very hermetic (Figs. 6B-C; compare with Figs. 7B, C, D). Figure 7A shows a longitudinal section of *C. cf abyssorum* where the adductor muscles which ensure the closure of the valves are visible. This band of muscle is considerably larger than these same muscles in Podocops (Fig. 7B, C D). A first particularity is that it links the two valves to form a continuous band of muscle whereas in the Podocops,

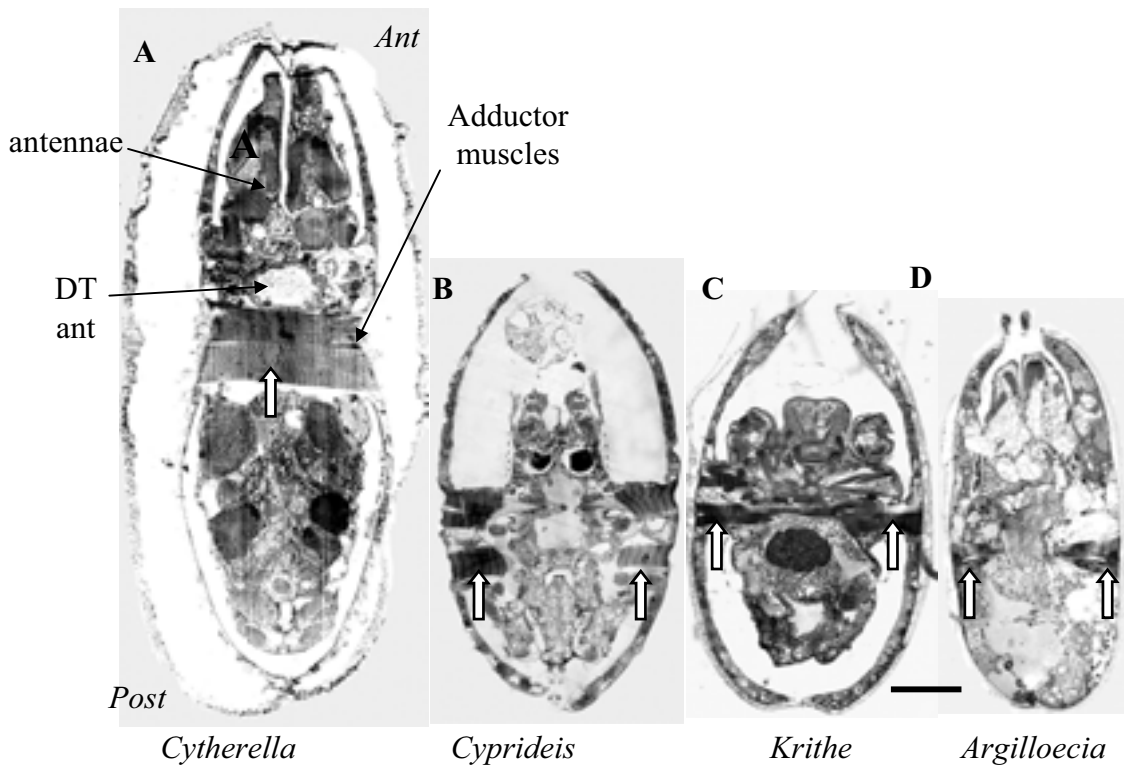


Figure 7: Morpho-functional anatomy of the adductor muscles of *Cytherella abyssorum* compared with various Podocops. Longitudinal sections on or under the median plane. A- *Cytherella abyssorum*, B- *Cyprideis torosa*, C- *Krithe*, D- *Argilloecia conoidea*. Longitudinal sections. Ant, anterior; Post, posterior, DT ant., anterior digestive tract. Scale, 100 μ m

the adductor muscles are considerably smaller and located on the sides of the soft body. The length of the band of muscle in *C. cf abyssorum* is between 200 and 250 μm (Fig. 7A). This whole morpho-functional set of observation is thus clearly highly characteristic and has the vital role of keeping the valves tightly closed. It is also interesting to note that *Cytherella cf abyssorum* is considerably larger (size $>800 \mu\text{m}$) than the other Podocops shown in figures 7 B-D but the maximal distances of diffusion of oxygen from the water into the tissues do not exceed 100 μm in this animal which has no circulatory system. Finally, regarding the closure of the *Cytherella cf abyssorum* valves, during the protocol including the animals for the morpho-functional analysis, in all the specimens that had been put in fixing solution ($n = 10$) their valves were found again to be closed tight. As we had never observed this phenomenon in any of the other ostracods studied previously (Corbari et al., 2004; 2005a), despite an identical embedding protocol, we suggest that this reaction can clearly be interpreted as a form of resistance or a resistance strategy specific to the species when in an adverse environment.

DISCUSSION

In this study, we examined the basic principles of the physiology of respiration in the Platycop ostracod *Cytherella cf abyssorum*. Our results show that although there is no ventilatory response during 2 h exposures in hypoxia, (2 at 10h at $\text{PO}_2 \leq 6 \text{ kPa}$), ventilatory activity is modified during longer periods of exposure (36-72 h) when it becomes practically continuous, even though ventilatory frequency (fR) decreases. So this species has a different ventilatory behaviour from that described for the podocop ostracods already studied (Corbari et al., 2004) and the Myodocop ostracod *Cylindroleberis mariae* (Corbari et al., 2005a). *C. cf abyssorum* also presents (i) a set of specific anatomical features (valve thickness, hermetic closing mechanism, powerful adductor muscles and muscle ties from one valve to another) and (ii) a specific closure behaviour in adverse environments characteristic of a strategy and ability to demonstrate resistance in difficult or crisis conditions, which is clearly different from and potentially superior to other species.

Adaptative oxygen regulation strategy in Cytherella cf abyssorum.

Cytherella cf abyssorum differed from podocopid ostracods (Corbari et al., 2004) and myodocopid ostracods (Corbari et al., 2005a), by demonstrating a different ventilatory behavior in both normoxic and hypoxic conditions. Contrary to Whatley's hypothesis (1991, 1995), we have no experimental argument which enables us to say that the anatomical

arrangement described by Cannon (1933) – i.e. 3 pairs of ventilatory appendices - ensures a high rate of ventilation as we only seen one beating ventilatory appendice, always working at low frequency. In normoxia, in the same experimental conditions, the Podocops *Leptocythere castanea*, *Cyprideis torosa*, *Loxoconcha elliptica*, *Cytheropteron alatum*, and *Argilloecia conoidea* had a ventilatory frequency of $63 \pm 7 \text{ min}^{-1}$ (mean \pm 1 SEM), the Myodocop *Cylindroleberis mariae* had a ventilatory frequency of $93 \pm 3 \text{ min}^{-1}$ (mean \pm 1 SEM), whereas in *C. cf abyssorum* it was 3 to 4.5 times slower ($21 \pm 3 \text{ min}^{-1}$, mean \pm 1 SEM). In prolonged hypoxic conditions ($\text{PO}_2 = 3 \text{ kPa}$ for 2-3 days), the ventilatory frequency in *Cytherella cf abyssorum* decreased furthermore by a factor of 2, whereas it remained constant in the other Podocops and Myodocops. However, in *Cytherella cf abyssorum* ventilation became continuous, whereas in the Podocops and Myodocops, it remained as unpredictable and discontinuous as in normoxia. Finally, it should be noted that associated with this slower ventilatory activity, *Cytherella cf abyssorum* presented a much slower motor activity and overall behaviour. It moved twice as slow as Podocops ($1 \text{ to } 2 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ in *Leptocythere castanea*, *Cyprideis torosa*, *Argilloecia conoidea*, *Cytheropteron alatum*, and *Loxoconcha elliptica*, Corbari et al., 2004). Note that the Myodocop *Cylindroleberis mariae* reached $20 \text{ mm}\cdot\text{sec}^{-1}$ when swimming freely in open water (Corbari et al., 2005a).

All of these observations, while demonstrating that *Cytherella cf abyssorum* is clearly less active than other ostracods, suggest very strongly that it has metabolic requirements, and hence a need for oxygen (O_2 consumption), which are much lower. It is coherent with the lower ventilatory activity that we have described. All the information collected suggests consequently a low basic level of metabolic activity and hence a lesser potential dependency with regard to the lack of O_2 than other ostracods.

After exposure in hypoxic environments, the typical adaptative response observed in decapod crustacea is an increase in ventilatory frequency accompanied by a decrease in the number of ventilatory pauses and apnea (Taylor, 1982). These adaptations are some of the compensation mechanisms that have been developed to cope with the decrease in available oxygen in the water and to ensure that oxygen consumption and the oxygenation state of the internal medium (Massabuau, 2001) are maintained. In *Cytherella cf abyssorum*, the ventilatory response is complex as we observe on one hand, a decrease in ventilatory pauses, which would appear to be adaptative, but also a decrease in ventilatory frequency, which, on the other hand, has no adaptative value. In fact, analysis of the total number of ventilatory

beats in an hour shows that considering these changes overall, there is no significant difference in the number of ventilatory beats per unit of time between hypoxic and normoxic conditions. As visual inspection never suggested any change of stroke volume, it would therefore seem that, although *C. cf abyssorum*'s ventilatory behaviour is different from that of other ostracods in hypoxia, it is unlikely that, overall, this change gives rise to any significant increase in ventilatory rate.

In evolutionary terms, ostracods emerge as an outstanding group, covering the last 500-540 million years of aquatic life. Among them, there are podocopids (who lack gills and blood circulatory system) and myodocopids (who possess a blood circulatory system, with or without gills, and thus appear to be more evolved), which lack any regulatory mechanism to adapt their ventilation to cope with changes in water oxygenation. Based on present data we suggest consequently that the ventilatory behaviour of the Platycop *Cytherella cf abyssorum* (which also lacks gills and blood circulatory system) should be interpreted in terms of a rudimentary ability to regulate respiration and homeostasis. This response has to be qualified as immature when compared with that of modern decapod crustaceans. Indeed, the increase in duration of ventilatory activity is counterbalanced by a decrease in ventilatory frequency. Thus, the emergence of ability to regulate *C. cf abyssorum* is a very partial adaptative ability, a very far cry from the establishment of the on - off type (regulation vs no regulation). Lastly, note that this set of observation, acquisition of heart and gill in one group of ostracod, beginning of ventilatory regulation ability in another group, clearly illustrates a notion of burgeoning evolution and not a continuous linear progression associated with a gradual complexification process.

Finally, our results show once again, as in the ostracods studied previously (Corbari et al, 2004 and 2005a), the presence of a chemosensitivity to oxygen, either central or peripheral. The information associated with the lack of oxygen, and sent to the respiratory centres, is not interpreted very quickly here as we measured no response whatsoever 2 h after a change in oxygenation. In the crayfish (Massabuau et al., 1980), the trout and the tench (Eclancher and Dejours, 1975), the ventilatory response happens in a matter of a few seconds. In fact, the presence of physiologically peripheral chemoreceptors similar to those described in fish (Shelton et al. 1986) and crustaceans (Ishii et al. 1989) would appear to be unlikely in *Cytherella cf abyssorum*. We therefore report here about a type of chemoreception to O₂ which, from a purely functional point of view, can once again be qualified as primitive.

Morpho-functional characteristics and resistance strategy

During hypoxic periods in the field (also called kenoxia or dysaerobia), oxygen partial pressure is not the only physico-chemical factor to vary to extremes. On a very regular basis there are decreases in pH, increases in CO₂ partial pressures and in H₂S concentrations associated with the decrease in oxygen in the water. Variations in all these parameters are potentially toxic and fatal.

The morpho-fonctional analysis of *Cytherella cf abyssorum* revealed three remarkable characteristics in terms of resistance which may limit contamination of the internal medium. Firstly, the type of valve closure observed is very specific to *Cytherella cf abyssorum* and not found in other Podocops, and it seems to be reasonably hermetic because of the way the valves fit together. In fact the valve contact area has the geometry of a joint that appears hermetically sealed all the way along the edge of the carapace, as already described by Jaanusson (1985). Secondly, the valves are very thick: 50 to 120 µm, compared with 15-30 µm in other Podocops (Fig. 7). We suggest that this is clearly characteristic of a form of resistance which is not only mechanical but which, during hypoxic events, also acts as a barrier to the diffusion of the gases and toxic products mentioned above. Thirdly, the presence of a thick band of muscle, composed of a series of between 10 to 14 adductor muscles (Cohen, 1982), is extremely suggestive of a potential to keep the valves tightly closed. An important fact in *C. cf abyssorum*, as in *C. abyssorum* (Jaanusson, 1985), is that these muscles are directly fixed to the two valves, whereas in Podocops the muscles are attached between the animals' soft body and the valves. This specific structure is obviously anatomically more efficient for tight closure of the valve.

All of these anatomical characteristics therefore single out *Cytherella cf abyssorum*, and of course other species of Cytherellidae with similar anatomical characteristics and ecological habits, from the wider group of Podocops (Jaanusson, 1985). The description of the specific morpho-fonctional structure observed in Cytherellidae, associated with the observation of the systematic closure behaviour observed experimentally in *C. cf abyssorum* when they were prepared for microscopic examination, clearly demonstrates a form of resistance and a particular behavioural strategy when conditions become unfavorable for the animal.

Re-interpretation of Whatley's hypothesis.

During hypoxic crises, Whatley (1990, 1991) reported a higher proportion of Platycops in the ostracod populations. This change in proportion is based not on an increase in the number of Platycops but rather on the disappearance of other species. His hypothesis, explaining why

Platycops are more resistant in severely hypoxic conditions, is based mainly on Cannon's anatomical descriptions and suggestions (1933). The idea is that these animals filter larger volumes of water than other ostracods thanks to their three pairs of ventilatory plates and a hypothetical mode of nutrition by filtration. If we consider the species that we studied as being representative of the Cytherellidae and Platycops, without disputing the basis of Whatley's proposition, our studies now make it possible to bring complementary physiological and anatomical arguments to account for the Platycops' apparent increased resistance when faced with hypoxia.

In short, during a hypoxic event in marine sediments, the redox front rises towards the surface. On the basis of previous (Corbari et al., 2004) and present observations we suggest that the Platycops could remain in the deep layers of the sediment for longer, whereas other Podocops would have to rise to the surface. Corbari et al. (2004) have shown that Podocops like *L. castanea*, *C. torosa*, *A. conoidea* and *C. alatum* follow the oxygenation layer where PO₂ is between 3 and 5 kPa. When they reach the upper zones, the animals closest to the surface would then be more exposed to predation by fish and crustacea, which would account for the relative increase in the proportion of Platycops.

This scenario is based on the following experimental arguments. Firstly, the Platycops that we studied have a low level of motor and ventilatory activity, which is very suggestive of lower metabolic needs, and hence less need of oxygen, than their fellow creatures. In the relatively confined environment represented by the interstitial water in the sediments, the Platycops must therefore use up the quantity of oxygen present in their environment less quickly and hence be less eager to escape the lack of oxygen. Secondly, if we also base our theory on their anatomical characteristics, it would appear very possible that the strategy developed by Platycops to cope with hypoxia is not avoidance and escape but rather based on resistance and waiting. Indeed, these anatomical characteristics, thick sealing valves, exceptionally well-developed adductor muscle, are more revelatory of a resistance strategy of the "wait and see" type, like most bivalve molluscs. The ultimate high percentage of *Cytherella* valves would appear to be the result of a dynamic equilibrium between disappearance of the other species of Podocops by predation, flight of predators and, in case of prolonged oxygenation problems, *in situ* deaths of Platycops in anoxia.

Finally, it is worthwhile to cite and comment two alternative hypothesis. On the one hand, one could imagine that the decrease or disappearance of other podocop ostracods, or of their fossilized valves, is due to the fact that valves that are finer than those of the Platycops dissolved *in situ*. However, this hypothesis seems unlikely since ostracod valves are well

known for their high ability to fossilise (Maddocks, 1992). On the other hand, one might also suppose the existence of an avoidance or escape reaction by the missing species. However, when we consider the fact that they are unable to swim, they do not float and they move through sediment at a speed of a few cm per hour, and balance these factors with the size of the water masses to consider when ventilation changes occur on the ocean bottom associated with global climate changes, this hypothesis would seem also to be unlikely. The only exception would be animals that are at the edges of the water masses being considered. We therefore suggest that disappearance as a result of differential predation is a possible alternative to consider.

Conclusion

To sum up, the deep-sea Platycop *Cytherella cf abyssorum* is to date the only ostracod known to show signs of ventilatory adaptation, and hence of autonomy in respect of oxygenation of the internal medium, when facing variations in the ambient oxygenation. It also has morpho-functional features that are clearly characteristic of an increased ability to resist changes in the physico-chemistry associated with hypoxia in the environment. These features clearly give it an advantage over other ostracods, enabling it to cope more successfully with hypoxia. *Cytherella cf abyssorum* has many anatomical features that are similar to other members of the order of Platycopida, and we suggest that these observations, based on physiological considerations, contribute to the reasons for the higher prevalence of these animals that has been reported in the sediments of deep water environments which undergo or have undergone hypoxic events.

Acknowledgements: We thank P. Ciret for his invaluable technical support. Thanks to numerous members of the Ostracon list for helpful discussions or comments. The authors are most grateful to the crewmembers of the RV *Côtes de la Manche* for their help in the field research performed in the Bay of Biscay in the course of the Oxybent program.

REFERENCES

- Cannon H (1933) On the feeding mechanism of certain marine Ostracods. Trans. R. Soc. Edinb. 57: 739-764
- Cohen A (1982) Ostracoda. In: Parker S (ed) synopsis and classification of living organisms. Mc Graw-Hill, New York, pp 181-202
- Corbari L, Carbonel P, Massabuau J-C (2004) How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans: the example of the podocopid ostracods. J Exp Biol 207: 4415-4425
- Corbari L, Carbonel P, Massabuau J-C (2005a) The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the myodocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*. J Exp Biol 208: 661-670
- Corbari L, Sorbe JC (2001) Structure of the suprabenthic assemblages in the Capbreton area (SE of the bay of Biscay). In: Colloq IA (ed) Océanographie du golfe de Gascogne VIIe Colloq Int, Biarritz 4-6 avril 2000, pp 87-95
- Corbari L, Sorbe JC, Massabuau J-C (2005b) Video study of the caprellid amphipod *Parvipalpus major*: morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms. Marine Biology 146: 363-371
- Dauvin JC, Sorbe, J.C., Lorgere JC (1995) Benthic Boundary Layer macrofauna from the upper continental slope and the Cap-Ferret canyon. Oceanol Acta 18: 113-122
- Eclancher B, Dejours P (1975) Contrôle de la respiration chez les poissons téléostéens : existence de chémorécepteurs physiologiquement analogues aux chémorécepteurs des vertébrés supérieurs. C R Acad Sci Paris 280: 451-453
- Hughes G, Knights B, Scammel C (1969) The distribution of PO₂ and hydrostatic pressure changes within the branchial chamber in relation to gill ventilation of the shore crab *Carcinus maenas*. J. Exp. Biol. 5: 200-203
- Hyacinthe C, Anschutz P, Carbonel P, Jouanneau J-M, Jorissen F (2001) Early diagenesis processes in the muddy sediments of Bay of Biscay. Mar. Geol. 177: 111-128
- Ishii K, Ishii K, Massabuau JC, Dejours P (1989) Oxygen-sensitive chemoreceptors in the branchio-cardiac veins of the crayfish *Astacus leptodactylus*. Respir. Physiol. 78: 73-81
- Jaanusson V (1985) Functional morphology of the shell in platycope ostracodes - a study of arrested evolution. Lethaia 18: 73-84
- Lethiers F, Whatley R (1994) The use of Ostracoda to reconstruct the oxygen levels of Late Palaeozoic oceans. Marine Micropaleontology 24: 57-69
- Lethiers F, Whatley R (1995) Oxygénation des eaux et ostracodes filtreurs : Application au Dévonien-Dinantien. Geobios 28: 199-207

- Maddocks R (1992) Ostracoda. In: Humes AG (ed) Microscopic Anatomy of invertebrates. Wiley-Liss, New York, pp 415-441
- Massabuau J-C (2001) From low arterial- to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory. *Resp. Physiol.* 128: 249-26.
- Massabuau J-C, Eclancher, B., Dejours P (1980) Ventilatory reflex response to hyperoxia in the crayfish, *Astacus pallipes*. *J. Comp. Physiol. B* 140: 193-198
- Ogawa N, Tauzin P (1973) Contribution à l'étude hydrologique et géochimique du Gouf de Capbreton. *Bull Inst Géol Bassin Aquitaine* 14: 19-46
- Shelton G, Jones D, Milsom W (1986) Control of breathing in ectothermic vertebrates. In: Society AP (ed) Handbook of physiology : The respiratory system. American Physiological Society, Bethesda, pp 857-909
- Sorbe JC (1991) Biología del misidáceo suprabentónico *Schistomysis ornata* (Sars, 1864) en la plataforma continental aquitana (suroeste de Francia). *Actas V Simp. Iber. Estud. Bentos Mar.* La Laguna University, Puerto de las Cruz, pp 273-298.
- Taylor E (1982) Control and co-ordination of ventilation and circulation in crustaceans : responses to hypoxia and exercise. *J. Exp. Biol.* 100: 289-320
- Whatley R (1990) Ostracoda and Global Events. In: Whatley R, Maybury, R. (ed) Ostracoda and Global Events. British Micropaleontological Society Publications Series, pp 648
- Whatley R (1991) The Platycopid signal : a means of detecting kenoxic events using Ostracoda. *J. Micropaleontol.* 10: 181-185
- Whatley R (1995) Ostracoda and oceanic paleoxygen levels. *Mitt. Hamb. Zool. Mus. Inst.* 92: 337-353
- Whatley R, Pyne R, Wilkinson I (2003) Ostracoda and palaeo-oxygen levels, with particular reference to the Upper Cretaceous of East Anglia. *Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleoecol.* 194: 355-386

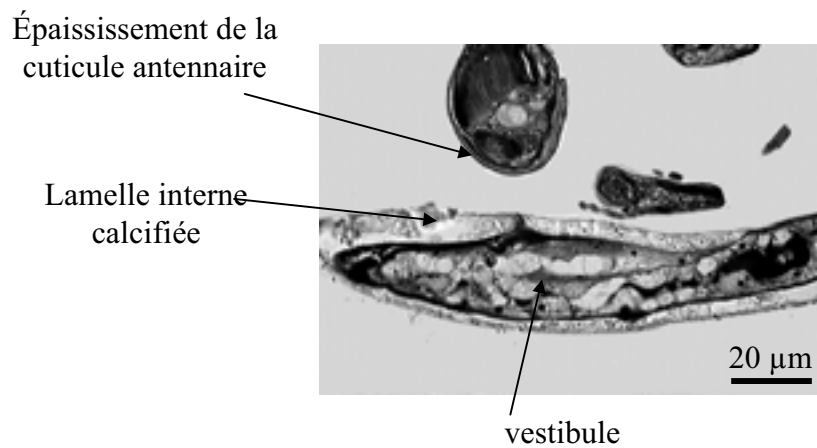


Figure 63 : Coupe longitudinale au niveau du vestibule d'une kribie sp. La structure est caractérisée par un épaississement de la lamelle interne calcifiée. On observe également un épaississement spécifique de la cuticule sur la face externe de l'antenne en vis à vis. Situés dans la zone de la chambre des pièces buccales, ces épaississements pourraient être fonction de la richesse en matière organique des sédiments et, indirectement, de l'oxygénation des fonds.

CONCLUSIONS

Dans ce chapitre nous avons abordé les bases physiologiques de la calibration de deux micro-fossiles utilisés en paléo-océanographie pour estimer l'état d'oxygénation des masses d'eau profonde, les ostracodes du genre *Krithe* (*Krithe* sp.) et de l'ordre des platycopes (*Cytherella lata*).

Chez les *Krithe*, la taille des vestibules (structure de la valve précédemment décrite comme creuse) est utilisée comme bio-marqueur. Un petit vestibule serait caractéristique d'une eau bien oxygénée, un grand vestibule, d'une eau faiblement oxygénée. Notre démarche a été celle de la recherche du rôle physiologique du vestibule dans le système des échanges gazeux. Nos résultats sont largement basés sur une étude morpho-fonctionnelle obtenue à partir de spécimens fixés vivants, ou fraîchement morts, ainsi que sur quelques enregistrements physiologiques sur des individus gardés vivants au laboratoire.

Nous montrons que chez l'animal vivant, le vestibule ne présente aucune caractéristique permettant de l'impliquer dans le système des échanges gazeux. C'est une structure remplie de cellules de types apparemment indifférenciés vis à vis de la fonction respiratoire. En quelques heures après la mort de l'animal, ces cellules se nécrosent en laissant un espace vide qui donnera naissance au vestibule qu'on observe sur les valves fossilisées analysées en paléo-océanographie. Nous rapportons par contre, en vis à vis de l'épaississement de l'exosquelette au niveau du vestibule, un autre épaississement spécifique, sur une des pièces buccales ou antennes frottant à ce niveau (Fig. 63). Nous avons suggéré que s'il existe une relation entre taille des vestibules de *Krithe* et oxygénation, celle-ci pourrait se faire indirectement, par l'intermédiaire de l'apport trophique et de la nutrition. En effet, dans les milieux océaniques profonds, la diminution de l'oxygénation est souvent liée à une augmentation de la matière organique. Dans un milieu plus riche en nourriture, les pièces buccales pourraient être plus actives et les frottements plus nombreux et fréquents. Cette augmentation d'activité pourrait alors aboutir à une augmentation de l'épaisseur et de la surface d'exosquelette fermant la face interne des vestibules de façon à protéger les tissus sous-jacents d'une lésion mécanique.

Dans une population d'ostracodes, la proportion des platycopes comme *Cytherella lata* augmente en milieu hypoxique (Wathley et al., 2003). Nous avons étudié les bases éthologiques, physiologiques et morpho-fonctionnelles qui pourraient expliquer ce

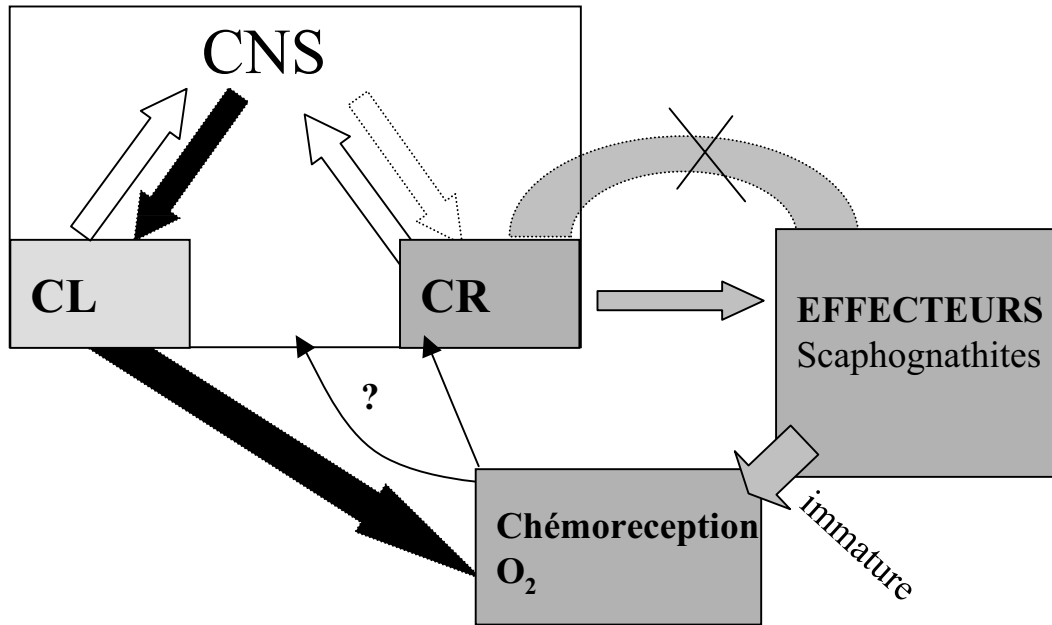


Figure 64 : Schéma de principe de la boucle de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur chez l'ostracode platycope, *Cytherella lata*. Chez *Cytherella*, la ventilation devient continue à PO_2 3 kPa et la fréquence ventilatoire diminue pour des périodes d'exposition longues. Il n'y a pas de réponse rapide ($t < 2$ h). Il y a un retour nerveux de la chémoreception sensible à l'oxygène sur les centres respiratoires. Cependant, la vitesse de réponse et le bilan augmentation de durée de ventilation – diminution de fréquence ventilatoire caractérisent un système "immature" par rapport à celui des crustacés décapodes.

CNS, Centres Nerveux Supérieurs; CR, centres respiratoires; CL, centres locomoteurs.

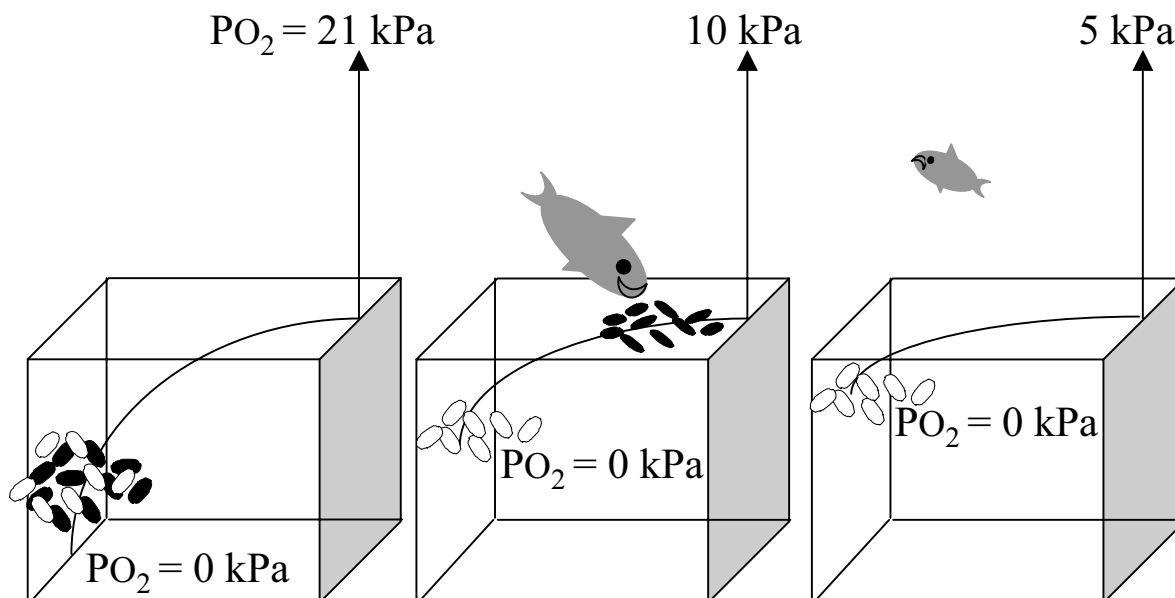


Figure 65 : Schéma hypothétique expliquant l'augmentation de proportion d'ostracodes platycopes au sein d'une population d'ostracodes exposée à une hypoxie progressive. Suite à une diminution d'oxygénation dans la colonne d'eau, le front redox remonte et entraînerait seulement une migration des ostracodes podocopes inféodés à la zone 3-5 kPa vers la surface. Par contre un début de capacité de régulation d'oxygénation du milieu intérieur, permettrait de retarder la remontée des platycopes.

phénomène. L'hypothèse de Wathley, basée sur les observations de Cannon (1933), est que les platycopes possèdent un appareil ventilatoire exceptionnellement développé car ce sont des animaux qui doivent filtrer de grands volumes d'eau pour obtenir leur nourriture par filtration. Nos résultats n'apportent pas de démenti formel à cette proposition car à l'heure actuelle, il est impossible de mesurer directement un débit ventilatoire sur ces animaux minuscules. Cependant, nos observations ne sont pas en faveur de cette hypothèse car, comparé à l'ensemble des ostracodes étudiés dans ce mémoire, les platycopes sont parmi les animaux qui ventilent le plus calmement et lentement (¹ et Fig. 64).

Par contre, pour expliquer l'augmentation de proportion de platycopes dans des milieux subissant ou ayant subi des hypoxies ou anoxies prolongées, nous apportons une nouvelle proposition explicative, résumée sur la Figure 65.

En situation de référence normoxique dans la colonne d'eau, nous partons de l'hypothèse que l'ensemble des populations d'ostracodes endobenthiques se trouve enfoui dans le sédiment (Chap. 3). Lorsqu'un événement hypoxique commence à se développer, les podocopes remonteraient vers la surface alors que les platycopes resteraient dans les couches les plus profondes. Cette réponse particulière pourrait soit, être liée à leur début de capacité d'adaptation autonome du milieu intérieur en terme d'oxygénation, soit le résultat de la mise en place d'une stratégie de résistance de type "wait and see" que permet leurs caractéristiques anatomiques particulières (valves épaisses et fermeture hermétique). Les podocopes, plus près de la surface, seraient alors plus exposés à leurs prédateurs ce qui expliquerait que leur nombre pourrait diminuer en valeur absolue et relative. Les prédateurs des ostracodes fuiraient ensuite, ou mourraient sur place, en ne modifiant pas le nombre de platycopes présents.

¹ Dans le cadre de cette comparaison, le platycope *Cytherella lata* présente par contre un changement de réponse ventilatoire remarquable, face aux changements de PO₂, par rapport aux autres podocopes étudiés. La figure 64, en reprenant le même type de représentation que dans les chapitres précédents, résume nos observations. En bref, il existe chez *C. lata* une chémosensibilité à l'oxygène (centrale ou périphérique ?) qui est à l'origine du passage d'une ventilation discontinuée en normoxie, à une ventilation continue en hypoxie. Cependant, alors qu'une réponse de type réflexe est observée en quelques secondes chez un crustacé décapode (Massabuau et al, 1981), chez *Cytherella* elle n'est pas observée après 2 h d'exposition. Nous n'avons observé cette adaptation que pour des expositions de 2-3 jours. C'est principalement cette observation qui nous incite à qualifier cette adaptation d'immature dans un contexte évolutif.

Chapitre 7

Conclusions Générales

Chapitre 7
CONCLUSIONS GENERALES

- * Résumé des principaux résultats
- * Evolution des mécanismes de contrôle de la fonction respiratoire
- * Comment les ostracodes seraient arrivés jusqu'à nous ?

Notre travail est une étude des capacités d'adaptation des ostracodes podocopes et myodocopes et d'un caprellidé profond face aux conditions d'oxygénation ambiante par l'analyse des régulations physiologiques sous-jacentes. Elle a été réalisée dans un contexte évolutif et écologique, dans le cadre de la théorie des faibles niveaux d'oxygénation¹. Les plus anciens fossiles d'ostracodes sont présents sur Terre depuis environ 500 millions d'années et présentent une remarquable stabilité anatomique. Nous avons travaillé sur des ostracodes présentant deux niveaux de complexité de leur système d'échanges gazeux : des ostracodes podocopes possédant uniquement un appareil de convection ventilatoire (Chap. 3) et des ostracodes myodocopes qui possèdent en plus de cet appareil de convection ventilatoire, un appareil de convection circulatoire composé d'un cœur et de branchies (Chap. 4). Les caprellidés sont beaucoup plus récents mais colonisent les mêmes biotopes, à l'interface eau-sédiment des fonds marins. Le caprellidé que nous avons étudié ne possède pas d'appareil de convection ventilatoire différencié mais des branchies "vestigiales" (Chap. 5).

Nous avons finalement abordé des bases de physiologie respiratoire et d'écophysiologie qui pourront participer à une meilleure calibration de certains groupes d'ostracodes utilisés en tant que paléomarqueurs d'oxygénation des fonds marins (Chap. 6).

A noter que nous avons abordé l'ensemble de cette étude dans une optique éthologique, en développant un effort particulier sur les conditions expérimentales et le respect de l'animal dans un environnement écologiquement réaliste.

Résumé des principaux résultats

En prenant comme exemple des ostracodes podocopes issus de deux écosystèmes totalement différents, le Bassin d'Arcachon (*Cyprideis torosa*, *Loxoconcha elliptica*, *Leptocythere castanea*) et les milieux profonds du Golfe de Gascogne (300-1000 m, *Cyterella lata*, *Argilloecia conoidea*, *Cytheropteron alatum*, *Krithe sp.*), nous avons montré que ces animaux (ne possédant ni cœur, ni branchie) sont incapables d'ajuster leur activité ventilatoire face à des variations d'oxygénation dans le milieu (expositions de 2 à 72 h). Cependant, ils ajustent l'oxygénation de leur milieu intérieur en se positionnant dans le gradient d'oxygénation du sédiment à des valeurs comprises entre 3 et 5 kPa et maintiennent

¹ Les animaux aquatiques aujourd'hui régulent l'état d'oxygénation de leur sang aux valeurs faibles qui régnaient à l'origine de la vie sur Terre (1-3 kPa) alors que la pression partielle d'O₂ dans une eau équilibrée à l'air au niveau de la mer est 21 kPa. Nos cellules de mammifères sont aussi maintenues à ce faible niveau d'oxygénation. L'hypothèse est donc que l'animal, aquatique puis aérien, à sang froid puis à sang chaud, se serait continuellement adapté au cours de la phylogenèse, de telle sorte que l'état d'oxygénation de ses cellules demeure au niveau faible et constant caractéristique de l'état d'oxygénation primitif dans lequel les premières cellules eucaryotes ont évolué (Massabuau, 2001, 2003).

de ce fait l'état d'oxygénation de leurs cellules par stratégie comportementale. Il existe donc une chémoréception à l'oxygène (périphérique ou centrale ?) chez les podocopes qui agit soit, *via* les centres respiratoires, soit directement sur les centres nerveux supérieurs et les centres locomoteurs. Ces résultats démontrent que chez ces animaux, apparus il y a plus de 500 MA, il existe déjà une stratégie de maintien de l'oxygénation des cellules à de faibles niveaux.

Nous avons ensuite étudié des ostracodes myodocopes (*Cylindroleberis mariae*), dont le plus ancien fossile décrit date de 425 MA, et qui présentent un niveau de complexité de l'échangeur gazeux (scaphognathites + cœur + branchies) supérieur à celui des podocopes. Nos résultats montrent que les ostracodes myodocopes, tout comme les podocopes, sont incapables d'ajuster de manière autonome leur activité ventilatoire, et cardiaque, afin de maintenir constante l'oxygénation de leur milieu intérieur. Par contre, *Cylindroleberis mariae* fabrique des nids dans lesquels il reste pendant ses périodes de repos diurne. Dans ce milieu, il retrouve des conditions hypoxique et hypercapnique ($PO_2 = 8-10$ kPa) qui sont à opposer aux conditions normoxique et normocapnique ($PO_2 = 21$ kPa) régnant dans la colonne où il nage pendant ses périodes d'activité nocturne. Par analogie avec ce qui avait été décrit en terme de processus de régulation du milieu intérieur chez les crustacés décapodes, pour des valeurs semblables de pression partielle d' O_2 et de CO_2 dans l'eau, nous avons proposé que ce mécanisme participe à la modulation du métabolisme et du comportement chez *Cylindroleberis mariae*. Ces mécanismes sont classiques chez les animaux vivant en terrier et les hibernants (Malan, 1993).

Dans ce chapitre, nous avons également abordé le problème de la ventilation inversée entre les ostracodes et les crustacés décapodes. Chez les ostracodes, l'eau circule uniquement de l'avant vers l'arrière de l'animal alors que chez les crustacés décapodes, elle circule préférentiellement d'arrière vers l'avant et, occasionnellement d'avant vers l'arrière. Les ostracodes étant plus anciens que les décapodes, nous avons interprété cette observation en termes évolutif et adaptatif. Nous avons proposé que dans les centres respiratoires nerveux des ostracodes, seul un programme moteur du mode de ventilation postéro-antérieur (reversal ou backward) s'exprimerait et que l'acquisition, ou l'expression du programme antéro-postérieur (forward) serait plus récent. Ce programme moteur permettant chez les décapodes une ventilation plus efficace, nous proposons que sa mise en œuvre pourrait être un paramètre décisif ayant permis l'augmentation de taille et d'activité des crustacés.

Dans le chapitre 5 nous avons étudié un animal beaucoup plus récent (30-40 MA), mais présentant un niveau de complexité du système des échanges gazeux toujours très simple, le caprellidé profond *Parvipalpus major* (pas d'appareil de convection ventilatoire différencié et des branchies "vestigiales"). *P. major* colonise les grands fonds marins et n'avait jamais été observé vivant jusqu'à ce jour. Nous avons donc réalisé dans un premier temps une étude comportementale sur des individus gardés au laboratoire, à la température in-situ, et avec leur substrat naturel. *P. major* vit en position dressée sur le sédiment vaseux grâce à ses péréopodes 5-7, disposés en étoile et permettant un ancrage solide au niveau de l'interface eau-sédiment. Fixé sur ce point d'ancrage, il se balance dans la colonne d'eau à la recherche de nourriture et passe la majorité de son temps dans des activités de nettoyage. Sans apport de nourriture extérieur dans la colonne d'eau, il peut remettre en suspension du sédiment et il pratique la coprophagie. Nous avons interprété l'allongement de son corps, dans le groupe des caprellidés, comme une adaptation à la recherche de nourriture en milieu profond lors de phases d'apports faibles de matière organique à partir de la colonne d'eau.

L'analyse des caractéristiques morphométriques de ses branchies et des segments principaux de son corps a montré que ces branchies ne représentent en aucun cas un échangeur gazeux efficace. La surface du corps et des appendices de *P. major* est au contraire de toute évidence la zone d'échange préférentielle d'O₂ et de CO₂. Nous avons proposé un couplage étroit entre activité, balancements, approvisionnement en oxygène et élimination du CO₂. Dans un tel système, à activité importante sont automatiquement associées ventilation importante et meilleure oxygénation du milieu intérieur, et inversement. Dans cette optique, l'activité de nettoyage prépondérante observée prend une valeur particulière puisqu'il s'agit de nettoyer en permanence l'échangeur gazeux et faciliter les flux entrant et sortant d'O₂ et CO₂. L'ensemble du mécanisme est à rapprocher de ce que nous avons montré chez les myodocopes en terme de modulation du comportement et changement d'oxygénation du milieu intérieur.

Le dernier chapitre (Chap. 6) propose des bases expérimentales, physiologiques, anatomiques et éthologiques, chez les ostracodes, comme outil d'aide à la calibration de paléomarqueurs d'oxygénation des fonds océaniques.

Appliqués tout d'abord à la relation vestibule des krithes – oxygène, nous montrons que le vestibule ne présente aucune caractéristique morfo-fonctionnelle permettant de l'impliquer directement dans le système des échanges gazeux. C'est une structure remplie de cellules de types apparemment indifférenciés vis-à-vis de la fonction respiratoire. En quelques

heures après la mort de l'animal, ces cellules se nécrosent en laissant un espace vide qui donnera naissance au vestibule qu'on observe sur les valves fossilisées analysées en paléoocéanographie. Nous proposons une hypothèse alternative qui pourrait cependant rendre compte d'une augmentation de la taille du vestibule en relation indirecte avec la diminution de l'oxygénation des fonds. En effet on observe un épaissement de l'exosquelette au niveau du vestibule et un autre épaissement, spécifique, sur une des pièces buccales ou antennes venant frotter à ce niveau. Nous suggérons que s'il existe une relation entre taille des vestibules et oxygénation, celle ci pourrait se faire par l'intermédiaire de l'apport trophique et la nutrition. En effet, dans les milieux océaniques profonds, la diminution de l'oxygénation est souvent liée à une augmentation de la matière organique. Dans un milieu plus riche en nourriture, les pièces buccales pourraient être plus actives et les frottements plus nombreux et fréquents. Cette augmentation d'activité pourrait alors aboutir à une augmentation de l'épaisseur et de la surface d'exosquelette fermant la face interne des vestibules de façon à protéger les tissus sous-jacents d'une lésion mécanique.

Appliqué ensuite à la relation pourcentage de platycopes – oxygène, nous proposons une nouvelle interprétation permettant d'expliquer pourquoi les platycopes présentent une résistance apparente plus élevée que leurs congénères en hypoxie. Nous montrons tout d'abord que, contrairement à l'hypothèse de Wathley (1990, 1991, 1995), le platycope *Cytherella lata* présente l'activité ventilatoire la plus faible de tous les ostracodes étudiés dans ce mémoire. Ce n'est donc pas une activité ventilatoire plus importante qui peut lui permettre de mieux résister au manque d'oxygène que les autres ostracodes. Par contre nous montrons que chez *C. lata*, un début de réponse adaptative existe en hypoxie lors d'expositions de longue durée. Dans ces conditions, sa ventilation devient en effet continue (ce que nous n'avons jamais observé chez les podocopes et myodocopes) mais le phénomène apparaît contrebalancé par une diminution de la fréquence ventilatoire (ce que nous n'avons pas non plus observé chez les podocopes et myodocopes). Nous avons donc qualifié cette réponse d'immature.

Pour expliquer l'augmentation de proportion de platycopes dans des milieux subissant ou ayant subi des hypoxies ou anoxies prolongées, nous avons proposé un nouveau scénario. En normoxie, l'ensemble des populations d'ostracodes endobenthiques serait enfoui dans le sédiment. Lorsqu'un événement hypoxique se développe, les podocopes remonteraient vers la surface alors que les platycopes resteraient dans les couches profondes. Cette réponse particulière pourrait soit, être liée à leur début de capacité d'adaptation autonome du milieu intérieur en terme d'oxygénation, soit le résultat de la mise en place d'une stratégie de

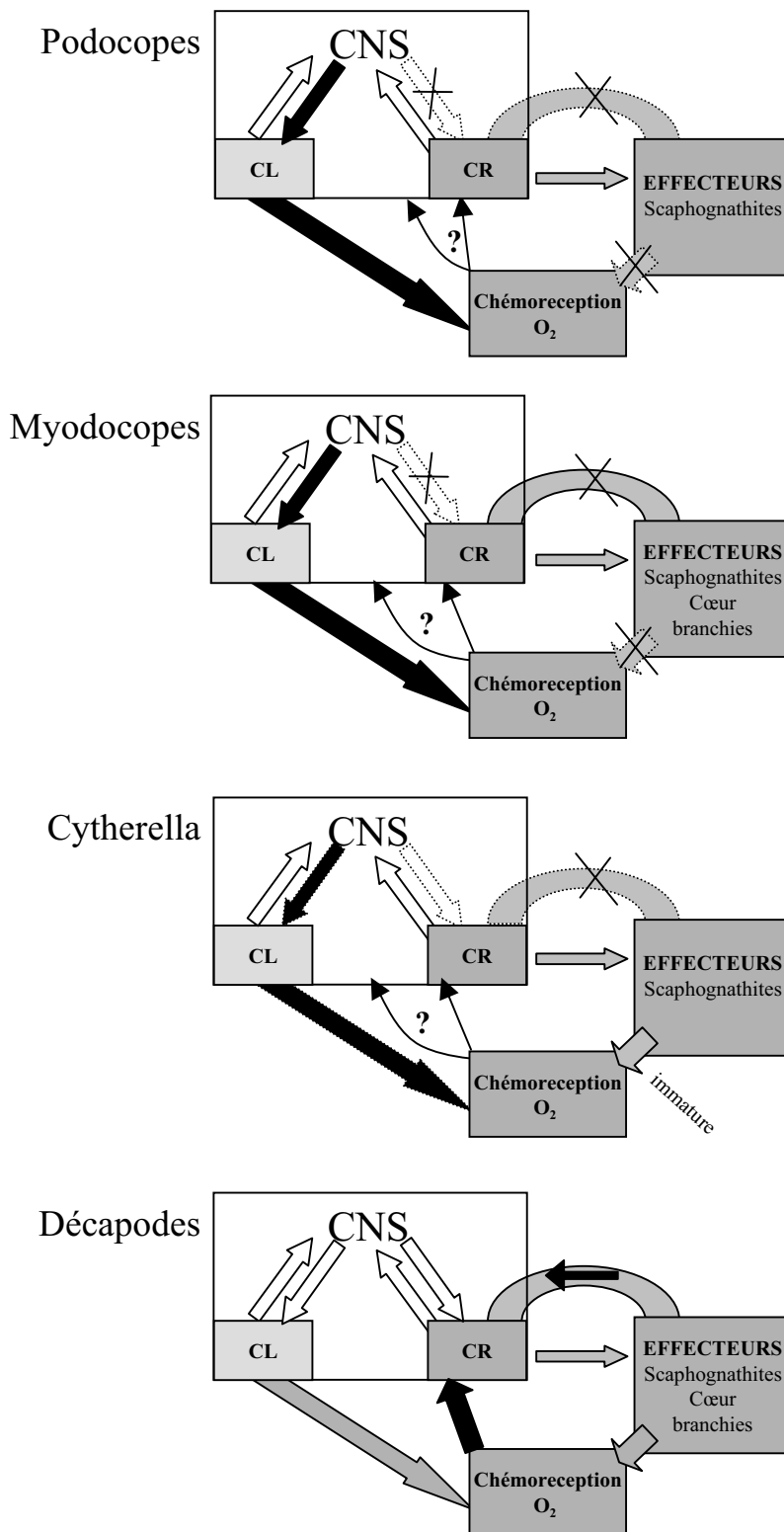


Figure 66 : Schéma comparatif des boucles de régulation de l'oxygénation du milieu intérieur chez les ostracodes podocopes et mydocopes, l'ostracode platycope *Cytherella lata* et les crustacés décapodes. CNS, Centres Nerveux Supérieurs; CR, centres respiratoires; CL, centres locomoteurs.

résistance que permet leurs caractéristiques anatomiques particulières (valves épaisses et fermeture hermétique). Les podocopes, plus près de la surface, seraient alors plus exposés à leurs prédateurs ce qui expliquerait que leur nombre diminuerait en valeur absolue et relative. Les prédateurs des ostracodes fuiraient ensuite, ou mourraient sur place, en ne modifiant pas le nombre de platycopes présents.

Evolution des mécanismes de contrôle de la fonction respiratoire.

Il y a environ 500 millions d'années, l'explosion cambrienne a eu lieu en une dizaine de millions d'années. A cette époque, la pression partielle d'oxygène dans l'océan primitif a augmenté d'un facteur de 10 à 20 pour atteindre les valeurs actuelles ($PO_2 = 21$ kPa). Aujourd'hui on sait que les animaux aquatiques maintiennent l'état d'oxygénation de leur sang à des valeurs 10 à 20 fois plus faibles que celle qui est observée dans une eau équilibrée à l'air et semblable à celle qui régnait avant ces événements.

L'ensemble des résultats de cette thèse apporte des informations sur la manière avec laquelle les premiers animaux ont pu s'adapter à ce bouleversement de composition de l'atmosphère. De toute évidence cette augmentation a permis l'explosion de la diversité de la vie et l'augmentation de taille des espèces, mais les animaux ont dû adapter très rapidement leur activité ventilatoire, ou leur comportement, pour garder un sang et un milieu intérieur très faiblement oxygéné.

Les observations obtenues sur les ostracodes nous apprennent en effet que, même avec des systèmes d'échange gazeux qui peuvent être qualifiés de primitif, l'homéostasie du milieu intérieur, en terme d'oxygénation est et devrait être une priorité fondamentale pour l'organisme. En effet, malgré l'absence de système de régulation opérationnelle de la fonction respiratoire et du système de contrôle des échanges gazeux, la solution développée par les ostracodes pour maintenir à un niveau faible et constant l'état d'oxygénation des tissus et cellules, s'exprime au niveau de leur comportement. Les animaux vont soit rechercher une niche écologique présentant l'état d'oxygénation requis (cas des podocopes), soit créer un environnement adéquat (cas des myodocopes).

Nous montrons que cette stratégie a été mise en place quel que soit le niveau de complexité et de maturation des systèmes d'échanges respiratoire et de maturation des systèmes de régulation. La figure 66 regroupe l'ensemble des schémas que nous avons proposé dans les différents chapitres. En bref, nous avons mis en évidence une chémosensibilité à l'oxygène chez les podocopes et les myodocopes. Par contre, alors que les crustacés décapodes sont capables d'adapter en quelques secondes leur ventilation, de façon

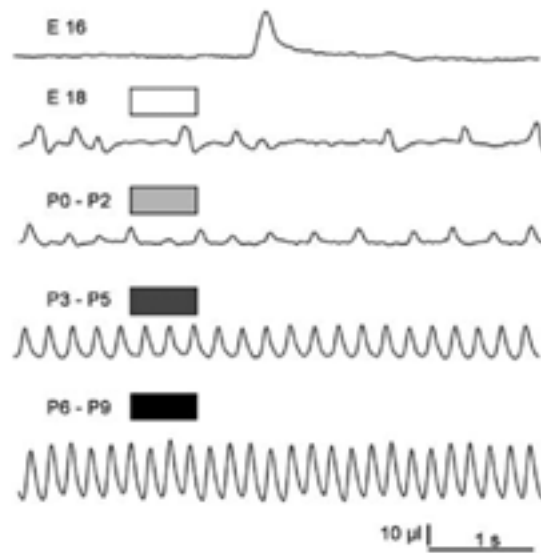


Figure 67 : Activité ventilatoire spontanée chez le souriceau. Après 16 j de développement *in-utero*, le fœtus ne présente que des hoquets (gasp) et est incapable de produire une ventilation autonome. Un rythme normal bien qu'irrégulier existe à 18 jours mais uniquement dans 80% des cas. A comparer au rythme régulier chez les nouveau-nés (Viemari et al., 2003). L'activité ventilatoire irrégulière du souriceau est à comparer avec l'activité ventilatoire irrégulière observée chez les ostracodes.

E16, E18, respectivement, 16 et 18 j de développement *in-utero*; P0-P2 = 0-2 j après la naissance ; P3-P5 = 3-5 j après la naissance P6-P9 = 6-9 j après la naissance.

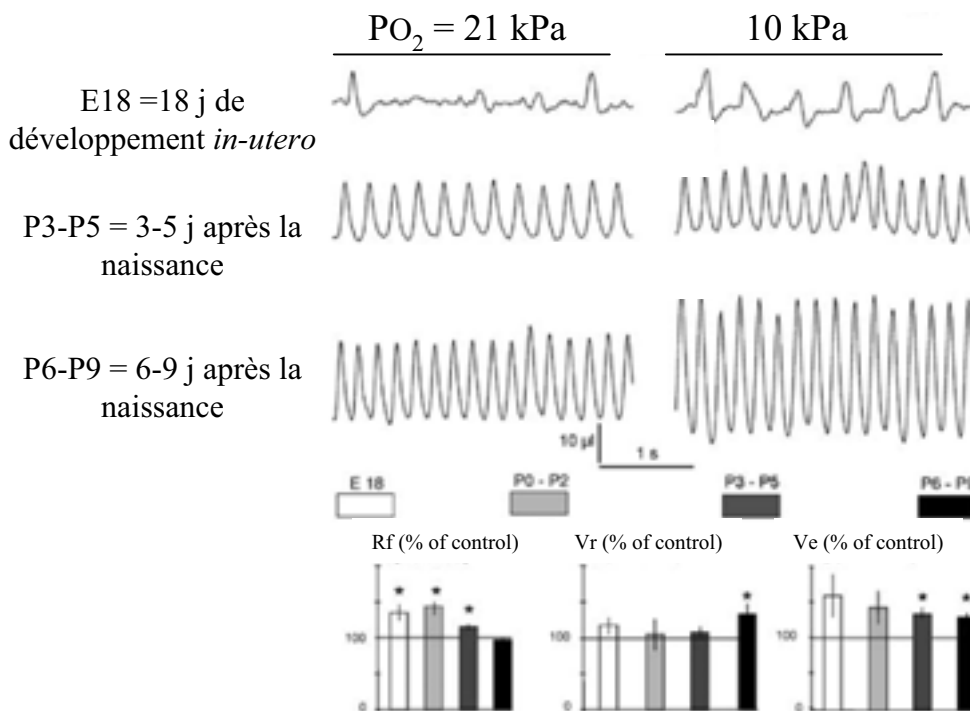


Figure 68 : Réponse à l'hypoxie au cours de l'embryogenèse de la souris. L'inspiration d'un mélange hypoxique ($PO_2 = 10$ kPa) pendant 3 min entraîne une augmentation significative du débit ventilatoire chez le souriceau uniquement 3-5 jours après la naissance. Au 18^{ème} jour de développement *in-utero*, à la naissance et au 2^{ème} jour après la naissance on observe seulement une augmentation de la fréquence ventilatoire sans changement significatif du débit ventilé (Viemari et al., 2003). L'immaturation de la réponse à 18j est à comparée à l'absence de réponse chez une partie des podocopes (Chap.3) et la réponse incomplète chez *Cytherella lata* (Chap.6). Rf, fréquence respiratoire ; Vr, volume total ; Ve, débit ventilé

inversement proportionnelle à l'état d'oxygénation de l'eau, cette capacité de régulation n'existe pas chez les ostracodes. Dans une boucle de régulation incluant les centres respiratoires (CR), les effecteurs ventilatoires (appendices ventilatoires ou scaphognathites ; cœur et branchies) et les chémorécepteurs sensibles à O₂, il manque clairement une composante qui est la capacité des centres respiratoires à moduler l'information motrice envoyée aux scaphognathites.

Nous montrons que l'information provenant des chémorécepteurs à O₂ est en fait interprétée aux niveaux supérieurs (CNS, centre nerveux supérieurs) et transférée aux centres locomoteurs. L'animal ajuste alors son positionnement pour réguler l'oxygénation de son milieu intérieur. Le niveau de comportement peut être très sophistiqué puisque les myodocopes vont construire des nids en groupe ce qui implique un comportement social. Ces nids, en plus de leur rôle en tant que cache contre les prédateurs, vont alors permettre de recréer l'environnement requis en terme respiratoire. Parmi les ostracodes étudiés, seul le platycope *Cytherella lata* montre un début de capacité de régulation de la fonction respiratoire qui demeure toutefois très incomplet ou immature.

L'activité ventilatoire des ostracodes est tout à fait particulière par comparaison avec celle d'animaux actuels, plus évolués. En effet, alors que chez un homard par exemple, la ventilation est continue et régulière, la ventilation de tous les ostracodes étudiés (à l'exception de *Cytherella lata* en hypoxie) est discontinue et irrégulière. Cette observation est intéressante car elle rappelle le comportement ventilatoire immature des mammifères au cours de l'embryogenèse. La figure 67 présente l'activité ventilatoire spontanée chez le souriceau (Viemari et al., 2003). Il est intéressant de remarquer que l'animal est au début totalement incapable de produire une activité ventilatoire régulière. Par exemple, après 16 j de développement *in-utéro*, le fœtus ne produit que des hoquets (gasp) s'il est exposé à l'air. Un rythme plus proche de la normale apparaît à 18 jours mais il est caractérisé par une très forte irrégularité. Par analogie, nous avons donc proposé de qualifier l'activité ventilatoire des ostracodes d'immature dans une vision évolutive allant de l'ostracode vers les crustacés décapodes.

La comparaison peut être également développée en ce qui concerne la réponse adaptative à l'hypoxie. La figure 68 montre comment la ventilation du souriceau répond au manque d'oxygène au cours du développement. Si l'animal qui est au 18^{ème} jour de son développement *in-utero* inspire un air où la pression partielle d'O₂ est 10 kPa, sa réponse est incomplète et inefficace par comparaison avec celle de l'animal adulte. Sa fréquence

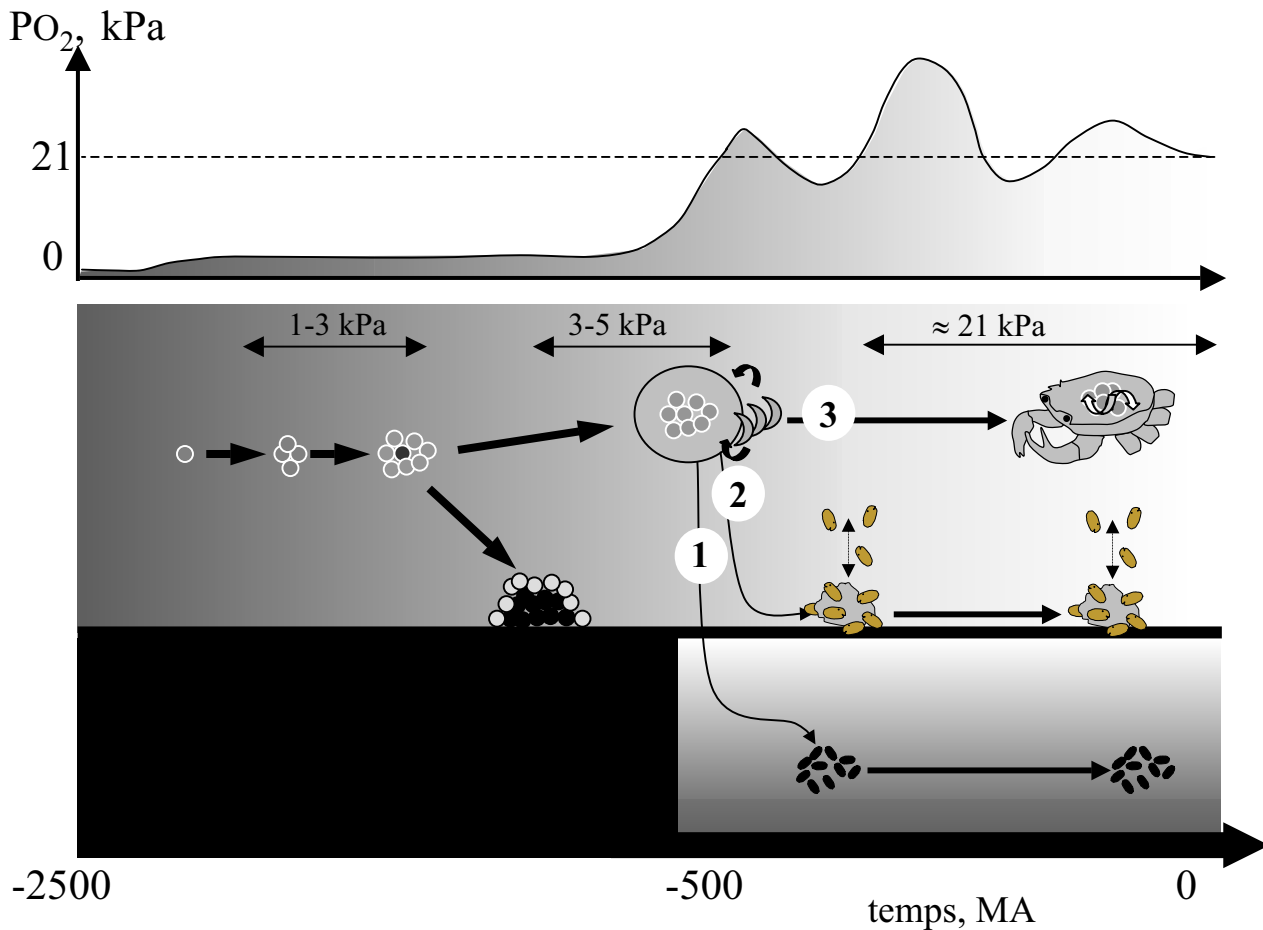


Figure 69 : Scénario évolutif expliquant les trois réponses adaptatives qui ont pu être mises en place chez l'animal aquatique pour faire face à l'augmentation de l'état d'oxygénation de l'eau, il y a 800 à 580 MA (Poulton et al., 2004). **Voie 1**, évitement et refuge dans les zones les moins oxygénées des sédiments marins (cas des podocopes). **Voie 2**, mise en place de niches pour recréer par confinement une atmosphère hypoxique (cas des mydocopes). **Voie 3**, développement d'un système de contrôle de la fonction ventilatoire permettant de réguler l'état d'oxygénation du milieu intérieur de l'animal, indépendamment du milieu extérieur (cas des décapodes).

ventilatoire augmente en effet, mais les modifications simultanées de volume courant sont telles que son débit ventilatoire n'augmente pas. Cette réponse est en fait à rapprocher de ce que nous avons rapporté dans le cas de *Cytherella*. Ici encore, il est possible de faire un parallèle entre embryogenèse et évolution, mettant en évidence l'immatunité de la boucle de régulation de la fonction respiratoire chez les ostracodes.

Comment les ostracodes seraient arrivés jusqu'à nous ?

A l'heure actuelle, un consensus existe sur le développement des premières cellules d'eucaryotes dans des conditions d'oxygénation faibles et sur la simultanéité entre complexification du vivant et augmentation d'oxygénation dans l'atmosphère terrestre.

Dans ce mémoire, les ostracodes ont été utilisés comme témoins privilégiés de la mise en place des principaux mécanismes de régulation de la fonction respiratoire face à ces changements d'oxygénation au Cambrien.

La figure 69 propose un scénario probable montrant pourquoi aujourd'hui les podocopes vivent dans les couches peu oxygénées du sédiment, les mydocopes dans des nids et les crustacés décapodes possèdent un sang peu oxygéné. En fait, trois stratégies ont dû être mises en place dans la période 800 à 540 millions d'années pendant laquelle la quantité d'oxygène a augmenté sur Terre (Poulton et al., 2004). Les podocopes, ne possédant pas de capacité de régulation intrinsèque de l'état d'oxygénation de leur milieu intérieur, ont pu se réfugier dans les couches les plus profondes des sédiments oxyques (Fig. 69, voie 1). Les mydocopes quant à eux, qui présentent un métabolisme plus actif, ont colonisé une autre niche écologique. Pendant leur période d'activité, ils se nourrissent dans la colonne d'eau. En dehors de cette période, ils se réfugient dans des nids créés à la surface du sédiment où ils retrouvent des conditions d'oxygénation faible (Fig. 69, voie 2). Ce comportement est certainement en partie le résultat d'une immatunité de leur système de contrôle des échanges gazeux, puisqu'ils sont incapables d'adapter leur activité ventilatoire de façon à réguler l'oxygénation de leur milieu intérieur. Finalement, ce serait donc, les animaux ayant acquis un système de régulation de la fonction respiratoire complet et opérationnel (appareil ventilatoire, cœur, branchies et boucle de régulation complète) qui ont pu s'affranchir des contraintes du milieu extérieur en recréant un milieu intérieur peu oxygéné et originel (Fig. 69, voie 3). Ce mécanisme représente, sur le chemin de l'homéostasie, l'indépendance de l'animal vis-à-vis de son environnement. Nous proposons qu'il ait pu jouer un rôle majeur dans le succès évolutif de nombreuses espèces.

Les observations présentées sur la Figure 69 apportent finalement des informations sur les valeurs de PO_2 nécessaires et suffisantes qui ont pu régner dans les océans originaux lors du développement de la vie primitive. En admettant que les podocopes aient cherché refuge dans les sédiments pour retrouver les conditions qu'ils avaient perdues avec l'augmentation d'oxygénation dans leur milieu originel, nous suggérons que PO_2 avant leur migration devait avoir été égal à 3-5 kPa. Ce n'est qu'avant cette période, que les valeurs de PO_2 plus faibles (1-3 kPa), et mesurées aujourd'hui dans le sang des animaux aquatiques récents, devaient régner dans les océans primitifs.

Dans l'état actuel de nos recherches, nos résultats apportent, pour conclure, une nouvelle approche vis-à-vis des problèmes d'évolution et de paléo-océanographie. Nous n'avons abordé que quelques réponses et hypothèses, néanmoins beaucoup de questions restent en suspens. L'ensemble de notre démarche s'inscrit dans une optique résolument "éthologique" et écophysiologique, basée sur la vision de l'animal dans son environnement. Ce type d'approche, certes complexe dans la pratique, demeure cependant fondamental et original. Dans le cadre d'études pluridisciplinaires, il ouvre un champ de recherche très vaste, restant encore à développer.

Chapitre 8

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abe, K. and Vannier, J.** (1995). Functional morphology and significance of the circulatory system of Ostracoda exemplified by *Vargula hilgendorffii* (Ostracoda, Myodocopida). *Marine Biology* **124**, 51-58.
- Adamczak, F.** (1966). On Kloedeneliids and cytherellids (platicopa) from the silurian of Gotland. *Stockholm Contrib. Geol.* **15**, 4-21.
- Aladin, N.** (1993). Salinity tolerance, morphology and physiology of the osmoregulatory organ in Ostracoda with special reference to Ostracoda from the Aral Sea. In *Ostracoda in the Earth and Life Sciences*, eds. K. G. McKenzie and P. J. Jones), pp. 387-403. Balkema, Rotterdam.
- Aladin, N. and Potts, W.** (1996). The osmoregulatory capacity of the Ostracoda. *Journal of Comparative Physiology B* **166**, 215-222.
- Ando, Y., Matsuzaki, O. and Yamagishi, H.** (2001). Cardiac nervous system in the ostracod crustacean *Vargula hilgendorffii*. *Zoological Science* **18**, 651 -658.
- Angel, M.** (1970). Observations on the behaviour of *Conchoecia spirostris*. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* **50**, 731-736.
- Angel, M.** (1993). Marine planktonic ostracods, eds. D. Kermack R. Barnes and J. Crothers), pp. 240. London: The linean society, Synopses of the british fauna.
- Arashkevich, Y. G.** (1977). Relationships between the feeding, rhythm and vertical migrations of *Cypridina sinuosa* (Ostracoda, Crustacea) in the western part of the Equatorial Pacific. *Oceanology* **17**, 466-469.
- Arudpragasam, K. and Naylor, E.** (1964). Gill ventilation and the role of reversed respiratory currents in *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **41**, 299-307.
- Arudpragasam, K. and Naylor, E.** (1966). Patterns of gill ventilation in some decapod Crustacea. *J. Zool.* **150**, 401-411.
- Barnett, P., Watson, J. and Connely, D.** (1984). A multiple corer for taking virtually undisturbed sample from shelf, bathyal and abyssal sediments. *Oceanol. Acta* **7**, 399-408.
- Bartels, H.** (1971). Respiration and circulation. In *Biological handbooks*, eds. P. Altman and D. Dittmer), pp. 16–20. New-york: Federation of the American Societies of experimental biology.
- Bate, R. and East, B.** (1972). The structure of the ostracode carapace. *Lethaia* **5**, 177-194.
- Bekker, A., Holland, H., Wang, P., Rumble, D., Stein, H., Hannah, J., Coetzee, L. and Beukes, N.** (2004). Dating the rise of atmospheric oxygen. *Nature* **427**, 117-120.
- Bellan-Santini, D. and Ruffo, S.** (1998). Faunistics and zoogeography. The Amphipoda of the Mediterranean. In *Mém Inst Océanogr Monaco*, vol. 4 (ed. S. Ruffo), pp. 895-912. Monaco.

- Bennett, M., Heupel, M., Bennett, S. and Parker, A.** (1997). *Sheina orri* (Myodocopa: Cypridinidae), an ostracod parasitic on the gills of the epaulette shark, *Hemiscyllium ocellatum* (Elasmobranchii: Hemiscyllidae). *International Journal for Parasitology* **27**, 275-281.
- Bennett, M., Heupel, M., Bennett, S. and Parker, A.** (1997). *Sheina orri* (Myodocopa: Cypridinidae), an ostracod parasitic on the gills of the epaulette shark, *Hemiscyllium ocellatum* (Elasmobranchii: Hemiscyllidae). *International Journal for Parasitology* **27**, 275-281.
- Benton, M.** (1993). The fossil record 2, (ed. M. J. Benton), pp. 845. London: Chapman and Hall.
- Berner, R. and Canfield, D.** (1996). A new model for atmospheric oxygen over phanerozoic time. *Am. J. Science* **289**, 333-361.
- Bickler, P. E.** (1986). Day–night variations in blood and intracellular pH in a lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *J. Comp. Physiol. B* **156**, 853–857.
- Bouverot, P.** (1985). Adaptation to altitude - Hypoxia in Vertebrates, pp. 169. Berlin: Springer.
- Britton, J. and Morton, B.** (1994). Marine carrion and scavengers. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* **32**, 369-434.
- Busa, W. and Nucitelli, R.** (1984). Metabolic regulation via intracellular pH. *Am. J. Physiol.* **246**, R409–R438.
- Caine, E.** (1974). Comparative functional morphology of feeding in three species of caprellids (Crustacea, Amphipoda) from the northwestern Florida gulf coast. *J Exp Mar Biol Ecol* **15**, 81-96.
- Caine, E.** (1977). Feeding mechanisms and possible resource partitioning of the Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) from the Puget Sound USA. *Mar. Biol.* **42**, 331-336.
- Caine, E.** (1978). Habitat adaptations of north American caprellid Amphipoda (Crustacea). *Biol. Bull.* **155**, 288-296.
- Canfield, D. E.** (1998). A new model for proterozoic ocean chemistry. *Nature* **396**, 450-453.
- Cannon, H.** (1933). On the feeding mechanism of certain marine Ostracods. *Trans. R. Soc. Edinb.* **57**, 739-764.
- Carausu, A.** (1941). Notes sur quelques caprellides des eaux françaises et monégasques. *Bull. Inst. Océanogr. Monaco* **803**, 1-15.
- Carbonel, P.** (1978). Densités fauniques d'ostracodes en milieu intertidal euryhalin: rôle de l'émersion. *Bull.Inst.Geol.Bassin d'Aquitaine* **23**, 165-171.

- Carbonel, P.** (1980). Les ostracodes et leur intérêt dans les définitions des écosystèmes estuariens et de plateforme continentale, essais d'application à des domaines anciens. In *département géologie océanographie*. BORDEAUX: Université Bordeaux I.
- Chevreaux, E. and Fage, L.** (1925). Amphipodes. In *Faune de France*, vol. 9, pp. 488: Office central de faunistique.
- Childress, J.** (1971). Respiratory adaptations to the oxygen minimum layer in the bathypelagic mysid *Gnathophausia ingens*. *Biol. Bull.* **141**, 109-121.
- Chong, P. and Cossins, A.** (1983). A differential polarized phase fluorometric study of the effect of high hydrostatic pressure upon the fluidity of cellular membranes. *Bio-Chemistry* **22**, 409-415.
- Chong, P., Fortes, A. and Cossins, A.** (1985). Mechanisms of inhibition of (Na-K)-ATPase by hydrostatic pressure studied with fluorescent probes. *J. Biol. Chem.* **260**, 14484-14490.
- Cohen, A.** (1982). ostracoda. In *synopsis and classification of living organisms*, (ed. S. Parker), pp. 181-202. New York: Mc Graw-Hill.
- Cohen, A. and Morin, J. G.** (1990). Patterns of reproduction in ostracodes: a review. *Journal of Crustacean Biology* **10**, 184-211.
- Coles, G., Wathley, R. and Mognilevsky, A.** (1994). The ostracod genus *Krithe* from the tertiary and quaternary of the north atlantic. *Paleontology* **37**, 71-120.
- Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C.** (2004). Des crustacés qui ne manquent pas d'air. *Pour la science* **320**, 25.
- Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C.** (2004). How a low tissue O₂ strategy could be conserved in early crustaceans: the example of the podocopid ostracods. *J Exp Biol* **207**, 4415-4425.
- Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C.** (2005a). The early life history of tissue oxygenation in crustaceans: the strategy of the mydocopid ostracod *Cylindroleberis mariae*. *J Exp Biol* **208**, 661-670.
- Corbari, L., Carbonel, P. and Massabuau, J.-C.** (soumis). The *Cytherella* tool to reconstruct paleo-oxygen levels: Basis of respiratory physiology. *Marine Biology*.
- Corbari, L. and Sorbe, J. C.** (2001). Structure of the suprabenthic assemblages in the Capbreton area (SE of the bay of Biscay). In *Océanographie du golfe de Gascogne VIIe Colloq Int*, vol. 31 (ed. I. A. Colloq), pp. 87-95. Biarritz 4-6 avril 2000.
- Corbari, L., Sorbe, J. C. and Massabuau, J.-C.** (2005b). Video study of the caprellid amphipod *Parvipalpus major*: morpho-functional and behavioural adaptations to deep-sea bottoms. *Marine Biology* **146**, 363-371.

- Cronin, T.** (1985). Speciation and stasis in marine Ostracoda: climactic modulation of evolution. *Science* **227**, 60-63.
- Danielopol, D., Horne, D., and Wood, R.** (1993). Notes on the ecology of Metacypris cordata (Ostracoda, Timiriaseviinae). In *Proceedings of the 2nd European Ostracodologists' meeting*, (ed. M. Keen), pp. 139-165. Glasgow: British Micropalaeontological Society.
- Dauvin, J. C. and Sorbe, J. C.** (1995). Suprabenthic amphipods from the southern margin of the Cap-Ferret Canyon (Bay of Biscay, northeastern Atlantic ocean): abundance and bathymetric distribution. *Pol. Arch. Hydrobiol.* **42**, 441- 460.
- Dauvin, J. C., Sorbe, J.C. and Lorgere, J. C.** (1995). Benthic Boundary Layer macrofauna from the upper continental slope and the Cap-Ferret canyon. *Oceanol Acta* **18**, 113-122.
- Dejours, P.** (1981). Principles of Comparative Respiratory Physiology (2nd ed.), pp. 244. Amsterdam: Elsevier/North-Holland.
- Dunel-Erb, S., Massabuau, J.-C. and Laurent, P.** (1982). Organisation fonctionnelle de la branchie d'écrevisse. *Soc. Biol.* **176**, 248-258.
- Eclancher, B.** (1972). Action des changements rapides de PO₂ de l'eau sur la ventilation de la truite et de la tanche. *J. Physiol.* **65**, 397- 402A.
- Elofson, O.** (1941). Zur Kenntnis der Marinen Ostracoden Schwedens mit besonderer Berücksichtigung des Skagerraks. *Zool. Bidr. Upps.* **19**, 215-534.
- Fage, L.** (1933). Pêches planctoniques à la lumière effectuées à Banyuls/mer et Concarneau. *Archives de Zoologie experimentale et generale* **76**, 128-143.
- Fenwick, G.** (1984). Life history and population biology of the giant ostracod *Leuroleberis zealandica* (baird, 1850) (Myodocopida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **77**, 255-289.
- Forgue, J., Truchot, J. P. and Massabuau, J.-C.** (1992). Low arterial PO₂ in resting crustaceans is independent of blood oxygen-affinity. *J. Exp. Biol.* **170**, 257-264.
- Forgue, J., Burtin, B. and Massabuau, J.-C.** (1989). Maintenance of oxygen consumption in resting *Silurus glanis* at different levels of ambient oxygenation. *J. Exp. Biol* **143**, 305-319.
- Forgue, J., Legeay, A. and Massabuau, J.-C.** (2001). Is the resting rate of oxygen consumption of locomotor muscles in crustaceans limited by the low blood oxygenation strategy? *J. Exp. Biol.* **204**, 933-940.
- Fox, H.** (1948). The haemoglobin of *Daphnia*. *Proc. Roy. Soc. B* **135**, 195-212.
- Fox, H.** (1949). Haemoglobin in crustacea. *Nature* **164**, 59.
- Fox, H.** (1957). Haemoglobin in crustacea. *Nature* **148**, 179.

- Gage, J. and Tyler, P.** (1991). A natural history of the organisms at the deep-sea floor, pp. 1-504. Cambridge: Cambridge University Press.
- Geiger, W.** (1990). The role of oxygen in the disturbance and recovery of the *Cytherissa lacustris* population of Mondsee (Austria). *Bull. Inst. Geol. Bassin d'Aquitaine* **47**, 167-189.
- Guerra-García, J.** (2001). Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia* **55**, 27-38.
- Guerra-García, J., García-Asencio, I. and Sánchez-Moyano, J.** (2001a). *Parvipalpus onubensis*, a new species (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) from the Atlantic coast of Southern Spain. *Sci. Mar.* **65**, 333-339.
- Guerra-García, J., Sánchez-Moyano JE, García-Gómez JC.** (2001b). Two new species of Caprella (Crustacea: Amphipoda : Caprellidea) collected on sandy bottoms in the Strait of Gibraltar. *Hydrobiologia* **448**, 181-192.
- Guerra-García, J., Corzo J, Garcia-Gomez JC.** (2002). Clinging behaviour of the Caprellidea (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Crustaceana* **75**, 41-50.
- Guerra-García, J.** (2003). Two new species of deep-water caprellids (Crustacea: Amphipoda) from north-eastern Brazil. *Cah. Biol. Mar.* **44**, 171-184.
- Guppy, M. and Withers, P.** (1999). Metabolic depression in animals; physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol. Rev.* **74**, 1- 40.
- Hagerman, L.** (1969). Respiration, anaerobic survival and diel locomotory periodicity in *Hirschmannia viridis*, Müller (Ostracoda). *Oikos* **20**, 384-391.
- Han, T. and Runnegar, B.** (1992). Megascopic eukaryotic algae from the 2.1 billion-year-old Negaunee Iron-Formation, Michigan. *Science* **257**, 232-235.
- Harris, R. and Aladin, N.** (1998). The Ecophysiology of Osmoregulation in Crustacea. In *Ionic Regulation in Animals*, eds. N. Hazon F. Eddy and G. Flik), pp. 1-25. Heidelberg & New York: Springer.
- Harris-Warrick, R., Marder, M., Selverston, A. and Moulins, M.** (1992). Dynamic biological networks: the stomatogastric nervous system, pp. 348. Boston: MIT Press.
- Hartmann, G.** (1967). Arthropoda, Crustacea 2. *Bronn's Kl Ordn Tierreichs* **4**, 217-408.
- Harvey, E.** (1928). The oxygen consumption of luminous bacteria. *J. Gen. Physiol.* **11**, 469-475.
- Henriques, C., Priede, I. and Bagley, P.** (2002). Baited camera observations of the deep-sea demersal fishes of the Northeast Atlantic Ocean at 15-28°N off West Africa. *Mar. Biol.* **141**, 307-314.

- Hochachka, P. and Somero, G.** (1984). Biochemical Adaptation. In *Mechanism and Process in Physiological Evolution*, pp. 480. Princeton: Princeton University Press.
- Holland, H.** (1994). Early proterozoic atmospheric change. In *Early life on earth, nobel symposium*, vol. 84 (ed. S. Bengtson), pp. 237-244. New York: Columbia Univ. Press.
- Horne, D., Cohen, A. and Martens, K.** (2002). Taxonomy, morphology and biology of Quaternary and living Ostracoda. In *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research. Geophysical Monograph*, vol. 131 (ed. J. A. Holmes, Chivas, A.R.), pp. 5-36. Washington, USA: American Geophysical Union.
- Hourdez, S., Lamontagne, J., Peterson, P., Weber, R. and Fisher, C.** (2000). Hemoglobin from a deep-sea hydrothermal-vent copepod. *Biol. Bull.* **199**, 95-99.
- Hudson, I. and Wigham, B.** (2003). In situ of predatory feeding behaviour of the galatheid squat lobster *Munida sarsi* (Huus, 1935) using a remotely operated vehicle. *J. Mar. Biol. Ass. UK* **83**, 4264-4265.
- Hudson, I., Wigham, B. and Tyler, P.** (2004). The feeding behaviour of a deep-sea holothurian, *Stichopus tremulus* (Gunnerus) based on in situ observations and experiments using a Remotely Operated Vehicle. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **301**, 75-91.
- Hughes, G.** (1984). General anatomy of gills. In *Fish Physiology*, vol. 10 (ed. W. Hoar, Randall, DJ), pp. 1-72. New York: Academic Press.
- Hughes, G., Knights, B. and Scammel, C.** (1969). The distribution of PO₂ and hydrostatic pressure changes within the branchial chamber in relation to gill ventilation of the shore crab *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* **5**, 200-203.
- Hyacinthe, C., Anschutz, P., Carbonel, P., Jouanneau, J.-M. and Jorissen, F.** (2001). Early diagenesis processes in the muddy sediments of Bay of Biscay. *Mar. Geol.* **177**, 111-128.
- Ishii, K., Ishii, K., Massabuau, J. C. and Dejourn, P.** (1989). Oxygen-sensitive chemoreceptors in the branchio-cardiac veins of the crayfish *Astacus leptodactylus*. *Respir. Physiol.* **78**, 73-81.
- Ishii, Y. and Yamagishi, H.** (2002). Cardiac pacemaker mechanisms in the ostracod crustacean *Vargula hilgendorffii*. *Comp. Biochem. Physiol.- Part A* **133**, 589-594.
- Jaanusson, V.** (1985). Functional morphology of the shell in platycope ostracodes - a study of arrested evolution. *Lethaia* **18**, 73-84.
- Jouve-Duhamel, A. and Truchot, J.-P.** (1983). Ventilation in the shore crab *Carcinus maenas* as a function of ambient oxygen and carbon dioxide : field and laboratories studies. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **70**, 281-296.
- Jumars, P., Self, R. and Nowell, A.** (1982). Mechanics of particle selection by tentaculate deposit feeders. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **64**, 47-70.

- Keith, D.** (1969). Aspects of feeding in *Caprella californica* Stimpson and *Caprella equilibra* Say (Amphipoda). *Crustaceana* **16**, 119-124.
- Keyser, D.** (1990). Morphological changes and function of the inner lamella layer of podocopid Ostracoda. In *Ostracoda and Global events*, (ed. L. Chapman and Hall), pp. 401-410. London: British Micropaleontological Society Series.
- Klages, M., Muyakschin, S., Soltwedel, T. and Arntz, W.** (2002). Mechanoreception, a possible mechanism for food fall detection in deep-sea scavengers. *Deep-Sea Res.* **49**, 143-155.
- Kobayashi, M.** (1982). Influence of body size on haemoglobin concentration and resistance to oxygen deficiency in *daphnia magna*. *Comp. Biochem. Physiol.- Part A* **72A**, 599-602.
- Kobayashi, M. and Hoshi, T.** (1984). Analysis of respiratory role of haemoglobin in *Daphnia magna*. *Zool. Sci.* **1**, 523-532.
- Krapp-Schickel, G.** (1993). Suborder Amphipoda Caprellidea. In *The Amphipoda of the Mediterranean*, vol. 13 (ed. S. Ruffo), pp. 802-804: Mém Inst Océanogr Monaco.
- Krogh, A.** (1941). The physiology of respiration mechanisms, pp. 246. Philadelphia: University Pennsylvania.
- Larsen, K.** (1998). Caprellidea (Crustacea ; Amphipoda) from Faroe Islands waters, with a key to the north Atlantic species. *Fróðskaparrit* **46**, 81-90.
- Laubitz, D.** (1970). Studies on the Caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of the American North Pacific. *National Museum of Natural Sciences. Publications in Biological Oceanography* **1**, 1-89.
- Laubitz, D.** (1972). The Caprellidae (Crustacea, Amphipoda) of the Atlantic and Arctic. *Canada Publications in Biological Oceanography* **4**, 1- 82.
- Laubitz, D. and Sorbe, J. C.** (1996). Deep-water caprellids (Amphipoda: Caprellidea) from the Bay of Biscay: a new species and a new locality record. *J Crust Biol* **16**, 626-632.
- Lethiers, F. and Whatley, R.** (1994). The use of Ostracoda to reconstruct the oxygen levels of Late Palaeozoic oceans. *Marine Micropaleontology* **24**, 57-69.
- Lethiers, F. and Whatley, R.** (1995). Oxygénation des eaux et ostracodes filtreurs : Application au Dévonien-Dinantien. *Geobios* **28**, 199-207.
- Lindsay, S. and Woodin, S.** (1995). Tissue loss induces switching of feeding mode in spionid polychaetes. *Mar. Ecol. Prog. Series* **125**, 159-169.
- Macquart-Moulin, C.** (1999). Diel vertical migration and endogenous swimming rhythm in *Asterope mariae* (Baird) and *Philomedes interpuncta* (Baird) (Crustacea Ostracoda Cypridinidae). *J. Plankton Res.* **21**, 1891-1910.

- Maddocks, R.** (1992). Ostracoda. In *Microscopic Anatomy of invertebrates*, vol. 9 (ed. A. G. Humes), pp. 415-441. New York: Wiley-Liss.
- Majoran, S., Agrenius, S. and Kucera, M.** (2000). The effect of temperature on shell size and growth rate in *Krithe praetexta praetexta* (Sars). *Hydrobiologia* **419**, 141 - 148.
- Malan, A.** (1985). Intracellular pH in response to ambient changes: homeostatic or adaptive responses. In *Circulation, Respiration and Metabolism*, (ed. R. Gilles), pp. 464-473. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Malan, A.** (1993). pH and metabolic depression in mammalian hibernation. The example of brown adipose tissue. In *Surviving Hypoxia: Mechanisms of Adaptation and Control*, (eds. P. Hochachka P. Lutz M. Rosenthal T. Sick and G. Van den Thillart), pp. 579-583. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Mangum, C. and Ricci, J.** (1989). The influence of temperature on O₂ uptake and transport in the horseshoe crab *Limulus polyphemus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **129**, 243-250.
- Marder, E. and Bucher, D.** (2001). Central pattern generators and the control of rhythmic movements. *Current Biology* **11**, R986-R996.
- Marquiegui, M. and Sorbe, J. C.** (1999). Influence of the near-bottom environmental conditions on the structure of the bathyal macrobenthic crustacean assemblages from the Capbreton canyon (Bay of Biscay, NE Atlantic). *Acta Oecol.* **20**, 353-362.
- Martin, G. and Hose, J.** (1992). Vascular elements and blood (hemolymph), Decapod Crustacea. In *Microscopic anatomy of invertebrates*, vol. 10 (ed. F. Harrison), pp. 117-146. Chichester: Wiley-Liss.
- Mason, R., Mangum, C. and Godette, G.** (1983). The influence of the inorganic ions and acclimation salinity on hemocyanin-oxygen binding in the blue crab *Callinectes sapidus*. *Biol. Bull.*, 104-123.
- Massabuau, J.-C.** (1983). The respiratory system of the crayfish (a gas and ion exchanger). *J. Physiol.* **345**, 15.
- Massabuau, J.-C.** (2001). From low arterial- to low tissue-oxygenation strategy. An evolutionary theory. *Resp. Physiol.* **128**, 249-261.
- Massabuau, J.-C.** (2003). Primitive, and protective, our cellular oxygenation status? *Mechanisms of Ageing and Development* **124**, 857-863.
- Massabuau, J. C. and Burtin, B.** (1984). Regulation of oxygen consumption in the crayfish *Astacus leptodactylus* at different levels of oxygenation : role of peripheral O₂ chemoreception. *J. Comp. Biol.* **115**, 43-49.
- Massabuau, J.-C., Burtin, B. and Wheatly, M.** (1991). How is O₂ consumption maintained independent of ambient oxygen in mussel *Anodonta cygnea*. *Resp. Physiol.* **83**, 103-114.

- Massabuau, J.-C., Eclancher, B. and Dejours, P.** (1980). Ventilatory reflex response to hyperoxia in the crayfish, *Astacus pallipes*. *J. Comp. Physiol. B* **140**, 193-198.
- Massabuau, J.-C. and Klingler, C.** (2002). Primitive, l'oxygénation de nos cellules ? *la recherche* **354**, 48-51.
- Mayer, L., Jumars, P., Taghon, G., Macko, S. and Trumbore, S.** (1993). Low-density particles as potential nitrogenous foods for benthos. *J. Mar. Res.* **51**, 373-389.
- Mc Kenzie, K., Majoran, S., Emami, V. and Reyment, R.** (1989). The Krithe problem : first test of Peypouquet's hypothesis, with a redescription of *Krithe praetexta praetexta* (Crustacea, Ostracoda). *Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleocol.* **74**, 343-354.
- Mc Kenzie, K., Angel M., Becker, G., Hinz-Schallreuter, I., Kontrovitz, M., Parker, A., Schallreuter, R. and Swanson, K.** (1999). Ostracoda. In *Functional morphology of the invertebrate skeleton*, (ed. wiley. and. sons), pp. 459-503: Savazzi.
- McCain, J.** (1966). *Abyssicaprella galathea*, a new genus and species of abyssal caprellid (Amphipoda: Caprellidae). *Galathea Repts* **8**, 91-95.
- McCain, J.** (1968). The caprellidae (Crustacea : Amphipoda) of the western north Atlantic. *Bulletin US National Museum* **278**, 1-147.
- McMahon, B.** (2001). Control of cardiovascular function and its evolution in Crustacea. *J. Exp. Biol.* **204**, 923-932.
- McMahon, B., Burggren, W. and Wilkens, J.** (1974). Respiratory responses to long-term hypoxia stress in the crayfish *Orconectes virilis*. *J. Exp. Biol.* **60**, 195-206.
- Meyer-Rochow, V.** (1999). Photoreceptor ultrastructure in the Antarctic mussel shrimp *Acetabulastoma* (Crustacea, Ostracoda), a parasite of *Glyptonotus antarcticus* (Crustacea; Isopoda). *Polar Biology* **21**, 166-170.
- Moore, R.** (1961). Treatise on invertebrate paleontology. In *Geological Society of America*, pp. 442. Kansas, USA: University of Kansas press.
- Mulder, T., Weber, O., Anschutz, P., Jorissen, J. and Jouanneau, J.** (2001). A few months-old storm-generated turbidite deposited in the Capbreton Canyon (Bay of Biscay, S-W France). *Geo-Mar Lett* **21**, 149-156.
- Müller, K.** (1982). *Hesslandona unisulcata* sp.nov. with phosphatised appendages from Upper Cambrian "Orsten" from Sweden. In *Fossil and recent Ostracods*, vol. 22 (ed. E. R.H. Bate, Robinson & L.M., Sheppard.), pp. 276-304. London: British Micropalaeontological Society.
- Myers, A. and Lowry, J.** (2003). A phylogeny and new classification of the corophiidea (amphipoda). *J. Crust. Biol.* **23**, 443-485.
- Ogawa, N. and Tauzin, P.** (1973). Contribution à l'étude hydrologique et géochimique du Gouf de Capbreton. *Bull Inst Géol Bassin Aquitaine* **14**, 19-46.

- Pasztor, V.** (1968). The neurophysiology of respiration in decapod Crustacea. The motor system. *Can. J. Zool.* **46**, 585-596.
- Patton, W.** (1968). Feeding habits, behaviour and host specificity of *Caprella grahami*, an amphipod commensal with the starfish *Asterias forbesi*. *Biol. Bull.* **134**, 148-153.
- Paul, R., Colmorgen M., Hüller S., Tyroller F., Zinkler, D.** (1997). Circulation and respiratory control in millimetre-sized animals (*Daphnia magna*, *Folsomia candida*) studied by optical methods. *J. Comp. Physiol. B* **167**, 399-408.
- Peypouquet, J. P.** (1975). Les variations des caractères morphologiques internes chez les ostracodes des genres *Krithe* et *Parakrithe* : relation possible avec la teneur en O₂ dissous dans l'eau. *Bulletin de l'Institut de Géologie du Bassin d'Aquitaine* **17**, 143-146.
- Peypouquet, J. P.** (1977). Les ostracodes et la connaissance des paléomilieus profonds. Applications au cénozoïque de l'Atlantique nord-oriental, pp. 443: University Bordeaux 1.
- Peypouquet, J. P.** (1979). Ostracodes et paléoenvironnements. Méthodes et application aux domaines profonds du Cénozoïque. *Bull. B.R.G.M.* **2**, 128-138.
- Philippe, H., Chenuil, A. and Adoutte, A.** (1994). Can the Cambrian explosion be inferred through molecular phylogeny? *Dev. Suppl.* **1994**, 15-25.
- Pirow, R. and Buchen, I.** (2004). The dichotomous oxyregulatory behaviour of the planktonic crustacean *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* **207**, 683-696.
- Pirow, R., Wollinger, F. and Paul, R.** (1999). The sites of respiratory gas exchange in the planktonic crustacean *Daphnia magna*: an in vivo study employing blood haemoglobin as an internal oxygen probe. *J. Exp. Biol.* **202**, 3089-3099.
- Poulton, S., Fralick, P. and Canfield, D.** (2004). The transition to a sulfidic ocean ~1.84 billion years ago. *Nature* **431**, 173 - 177.
- Relexans, J., Etcheber, H., Castel J., Excaravage, V and Auby, I.** (1992). Benthic respiratory potential with relation to sedimentary carbon quality in seagrass beds and oyster parks in the tidal flats of Arcachon Bay, France. *Est., coast. and shelf sci.* **34**, 157-170.
- Rodriguez-Lazaro, J. and Cronin, T.** (1999). Quaternary glacial and deglacial Ostracoda in the thermocline of Little Bahama Bank (NW Atlantic) : paleoceanographic implications. *Paleogeogr., Paleoclimatol., Paleoecol.* **152**, 339-364.
- Rome, D.** (1947). *Herpetocypris reptans* (ostracoda) étude morphologique et histologique. I Morphologie externe et système nerveux. *La cellule (Leuven)* **51**, 51-152.
- Royuela, M., Meyer-Rochow, V., Fraile, B. and Paniagua, R.** (1998). Ultrastructure of muscle cells in *Acetabulastoma* (Crustacea, Ostracoda) mussel shrimp from the Ross Sea (Antarctica). *Polar Biol.* **20**, 77-84.

- Sakakibara, Y., Burtin, B. and Massabuau, J.-C.** (1987). Circadian rhythm of extracellular pH in crayfish at different levels of oxygenation. *Resp. Physiol.* **69**, 359-367.
- Schmidt-Nielsen, K.** (1975). *Animal physiology*, pp. 549: Cambridge University Press.
- Schram, F.** (1982). The fossil record and Evolution of Crustacea. In *The biology of Crustacea*, vol. 1 (ed. L. Abele), pp. 93-147. New York: Academic press.
- Shelton, G., Jones, D. and Milsom, W.** (1986). Control of breathing in ectothermic vertebrates. In *Handbook of physiology : The respiratory system*, (ed. A. P. Society), pp. 857-909. Bethesda: American Physiological Society.
- Shu, D., Vannier, J., Huilin, L., Ling, C., Xingliang, Z. and Shixue, H.** (1999). The anatomy and lifestyle of *Kunmingella* (Arthropoda, Bradoriida) from the Chengjiang fossil Lagerstätte (early Cambrian; Southern China). *Lethaia* **32**, 279-298.
- Siesjö, B.** (1978). *Brain Energy Metabolism*, (ed. C. Wiley), pp. 245. New York, Brisbane, Toronto: Wiley-press.
- Simmers, J. and Bush, B.** (1980). Non-spiking neurones controlling ventilation in crabs. *Brain Res.* **197**, 247-252.
- Simmers, J. and Bush, B.** (1983). Motor programme switching in the ventilatory system of *Carcinus maenas*: the neuronal basis of bimodal scaphognathite beating. *J. Exp. Biol.* **104**, 163-181.
- Siveter, D., Sutton, M., Briggs, D. and Siveter, D.** (2003). An ostracode crustacean with soft parts from the Lower Silurian. *Science* **302**, 1747-1751.
- Siveter, D., Williams, M. and Waloszek, D.** (2001). A phosphatocopid Crustacean with appendages from the Lower Cambrian. *Science* **293**, 479-481.
- Smith, A. and Horne, D.** (2002). Ecology of marine, marginal marine and nonmarine Ostracodes. In *The Ostracoda: Applications in Quaternary Research Geophysical Monograph*, vol. 131 eds. J. A. Holmes and A. R. Chivas), pp. 37-64. Washington: American Geophysical Union.
- Smith, R. and Martens, K.** (2000). The ontogeny of the cypridid ostracod *Eucypris virens* (Jurine, 1820) (Crustacea, Ostracoda). *Hydrobiologia* **419**, 31-63.
- Somero, G.** (1991). Hydrostatic Pressure and Adaptations to the Deep Sea in Environmental and metabolic animal physiology. In *Comparative Animal physiology*, pp. 163-203.
- Sorbe, J. C.** (1983). Description d'un traîneau destiné à l'échantillonnage quantitatif étagé de la faune suprabenthique néritique. *Ann Inst Océanogr Paris* **59**, 117-126.
- Sorbe, J. C.** (1991). Biología del misidáceo suprabentónico *Schistomysis ornata* (Sars, 1864) en la plataforma continental aquitana (suroeste de Francia). *Estud. Bentos Mar.*, 273-298.

- Spears, T. and Abele, L.** (1998). Crustacean phylogeny inferred from 18S rDNA. In *Arthropods relationships*, (ed. R. A. Fortey, Tomas, R.H.), pp. 169-187. London: Chapman and Hall.
- St-Pierre, J., Brand, M. and Boutilier, R.** (2000). The effect of metabolic depression on proton leak rate in mitochondria from hibernating frog. *J. Exp. Biol.* **203**, 1469–1476.
- Svavarsson, J., Brattegard, T. and Stronberg, J.** (1990). Distribution and diversity patterns of asellote isopods (crustacea) in the deep Norwegian and Greenland Seas. *Prog. Oceanogr.* **24**, 297-310.
- Swanson, K.** (1990). The punciid ostracod - a new crustacean evolutionary window. *CFS* **123**, 11-17.
- Takeuchi, I.** (1993). Is the caprellidea a monophyletic group. *Journal of Natural History* **27**, 947-964.
- Takeuchi, I. and Hirano, R.** (1995). Clinging behaviour of the epifaunal caprellids (Amphipoda) inhabiting the Sargassum zone on the Pacific coast of Japan with its evolutionary implications. *J. Crust. Biol.* **15**, 481- 492.
- Takeuchi, I., Matsumasa, M. and Kikuchi, S.** (2003). Gill ultrastructure and salinity tolerance of *Caprella* spp. (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) inhabiting the Sargassum community. *Fisheries Science* **69**, 966-973.
- Takeuchi, I., Takeda, M. and Takeshita, K.** (1989). Redescription of the bathyal caprellid *Caprella unguлина* Mayer, 1903 (Crustacea, Amphipoda) from the north Pacific. *Bull. Natl. Sci. Mus. Jpn.* **15**, 19-28.
- Taylor, E.** (1982). Control and co-ordination of ventilation and circulation in crustaceans : responses to hypoxia and exercise. *J. Exp. Biol.* **100**, 289-320.
- Taylor, E., Butler, P. and Sherlock, P.** (1973). The respiratory and cardiovascular changes associated with the emersion response of *Carcinus maenas* during environmental hypoxia at three different temperatures. *J. Comp. Physiol.* **86**, 95-115.
- Taylor, E., Morris, S. and Bridges, C.** (1985). Modulation of hemocyanin oxygen affinity in the prawn *Palaemon elegans* under environmental salinity stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **94**, 167-180.
- Taylor, H. and Taylor, E.** (1992). Gills and lungs : the exchange of gases and ions. In *Microscopic anatomy of invertebrates, Decapod crustacea*, vol. 10, pp. 203-293: Wiley press.
- Terwilliger, N. and Ryan, M.** (2001). Ontogeny of Crustacean Respiratory Proteins. *American Zoologist* **41**, 1057-1067.
- Tran, D., A. Boudou, and J.C. Massabuau.** (2000). Mechanism for Maintaining Oxygen Consumption under Varying Oxygenation Levels in the Freshwater Clam *Corbicula fluminea*. *Can. J. Zool.* **78**, 2027-2036.

- Truchot, J.-P.** (1971). Fixation et transport de l'oxygène par le serum de *Carcinus maenas*. *C R Acad Sci Paris* **272**, 984-987.
- Truchot, J.-P.** (1973). Fixation et transport de l'oxygène par le sang de *Carcinus maenas* : variations en rapport avec diverses conditions de température et de salinité. *Neth. J. Sea Res.* **7**, 482-495.
- Truchot, J.-P.** (1975). Factors controlling the in vitro and in vivo oxygen affinity of the hemocyanin in the crab *Carcinus maenas*. *Resp. Physiol.* **24**, 173-189.
- Van Harten, D.** (1995). Differential food-detection : a speculative reinterpretation of vestibule variability in Krithe (crustacea, Ostracoda) Ostracoda and Biostratigraphy. In *Proc. 12th Int. Symp. Ostracoda, Balkema, Rotterdam.*, (ed. J. E. Riha), pp. 33-36.
- Van Harten, D.** (1996). The case against Krithe as a tool to estimate the depth and oxygenation of ancient oceans. In *Proc. ODP and the Marine Biosphere, Int. Conf.*, eds. A. Mognilevsky and R. Whatley), pp. 297-304.
- Van Morkhoven, F.** (1962). Post-paleozoic Ostracoda, their morphology, taxonomy, vol. 1, pp. 204. Amsterdam: Elsevier.
- Vanderkooi, J., Erecinska, M. and Silver, I.** (1991). Oxygen in mammalian tissue: methods of measurement and affinities of various reactions. *Am. J. Physiol.* **260**, C1131–C1150.
- Vannier, J. and Abe, K.** (1992). Recent and early paleozoic myodocope ostracodes : functional morphology, phylogeny, distribution and lifestyles. *Paleontology* **35**, 485-517.
- Vannier, J. and Abe, K.** (1993). Functional morphology and behaviour of *Vargula hilgendorffii* (Ostracoda, Myodocopida) from Japan: preliminary results from video-recording. *J. Crust. Biol.* **13**, 51-76.
- Vannier, J. and Abe, K.** (1995). Size, and body plan and respiration in the Ostracoda. *Paleontology* **28**, 4 843.
- Vannier, J., Abe, K. and Ikuta, K.** (1996). Gills of cylindroleberidid ostracodes exemplified by *Leuroleberis surugaensis* from Japan. *J. Crust. Biol.* **16**, 453-468.
- Vannier, J., Abe, K. and Ikuta, K.** (1998). Feeding in myodocopid ostracods: functional morphology and laboratory observations from videos. *Mar. Biol.* **132**, 391 - 408.
- Vannier, J. and Chen, J.** (2000). The Early Cambrian colonization of pelagic niches exemplified by *Isoxys* (Arthropoda). *Lethaia* **33**, 295 -311.
- Vannier, J., Williams, M. and Siveter, D.** (1997). The Cambrian origin of circulatory system of crustaceans. *Lethaia* **30**, 169-184.
- Viemari, J.-C., Burnet, H., Bevingut, M. and Hilaire, G.** (2003). Perinatal maturation of the mouse respiratory rhythm-generator: *in vivo* and *in vitro* studies. *Eur. J. Neurosci.* **17**, 1233-1244.

- Volbehr, U. and Rachor, E.** (1997). The association between the caprellid *Pariambus typicus* (Crustacea, Amphipoda) and ophiuroids. *Hydrobiologia* **355**, 71-76.
- Waloszek, D.** (1999). On the Cambrian diversity of Crustacea. In *Crustaceans and the Biodiversity Crisis*, eds. F. R. Schram and J. C. Von Vaupel Klein), pp. 3-27. Leiden: Brill Academic.
- Watson, W.** (1980). Long-term patterns of gill cleaning, swimming, and ventilation in *Limulus*. *J. Comp. Physiol. B* **141**, 77-85.
- Weber, R. and Vinogradov, N.** (2001). Nonvertebrate hemoglobins : functions and molecular adaptations. *Physiological Reviews* **81**, 569-627.
- Whatley, R.** (1990). Ostracoda and Global Events. In *Ostracoda and Global Events*, (ed. R. Whatley, Maybury, R.), pp. 648 pp: British Micropaleontological Society Publications Series.
- Whatley, R.** (1991). The Platycopid signal : a means of detecting kenoxic events using Ostracoda. *J. Micropaleontol.* **10**, 181-185.
- Whatley, R.** (1995). Ostracoda and oceanic paleoxygen levels. *Mitt. Hamb. Zool. Mus. Inst.* **92**, 337-353.
- Whatley, R., Pyne, R. and Wilkinson, I.** (2003). Ostracoda and palaeo-oxygen levels, with particular reference to the Upper Cretaceous of East Anglia. *Paleogeogr. Paleoclimatol. Paleoecol.* **194**, 355-386.
- Whatley, R., Siveter, D. and Boomer, I.** (1993). Arthropoda (crustacea, ostracoda). In *The fossil record 2*, (ed. B. MJ), pp. 343-356: Chapman and Hall.
- Whatley, R. and Zhao, Q.** (1993). The Krithe problem : a case history of the distribution of Krithe et Parakrithe (Crustacea, Ostracoda) in the South China Sea. *Paleogeogr., Paleoclimatol., Paleoecol.* **103**, 281-297.
- Wilkens, J.** (1999). Evolution of the cardiovascular system in Crustacea. *Amer. Zoologist* **39**, 199-214.
- Wirtz, P. and Vader, W.** (1996). A new caprellid-starfish association: *Caprella acanthifera* sl (Crustacea: Amphipoda) on *Ophidiaster ophidianus* and *Hacelia attenuata* from the Azores. *Life and Marine Sciences* **14**, 17-22.
- Wolvekamp, H. and Waterman, T.** (1960). Respiration. In *The physiology of crustacea*, vol. 1 (ed. T. Waterman), pp. 35-100. London: Academic press.
- Wyse, G., Sanes, D and Watson, W.** (1980). Central neural motor programs underlying short-and long-term patterns of *Limulus* respiratory activity. *J. Comp. Physiol. B* **141**, 86-95.

- Yamaguchi, S. and Endo, K.** (2003). Molecular phylogeny of Ostracoda (Crustacea) inferred from 18S ribosomal DNA sequences: implication for its origin and diversification. *Mar. Biol.* **143**, 23-28.
- Young, R.** (1975). Neuromuscular control of ventilation in the crab *Carcinus maenas*. *J. Comp. Physiol.* **101**, 1-37.
- Zhao, Q. and Whatley, R.** (1997). Distribution of the ostracod genera *Krithe* and *Parakrithe* in bottom sediments of the East China and Yellow seas. *Marine Micropaleontology* **32**, 195-207.
- Zhou, B. and Ikeya, N.** (1992). Three species of *Krithe* (Crustacea:Ostracoda) from Suruga Bay, Central Japan. *Trans. Proc. Paleont. Soc. Japan* **166**, 1097-1115.

Sur Terre, l'augmentation de la pression partielle d'O₂ (PO₂) de ≈1-3 à 21 kPa (valeur actuelle) a accompagné l'explosion de la vie au Cambrien, il y a plus de 500 millions d'années. Comprendre comment les premiers animaux ont pu s'adapter à ce changement majeur est un challenge important. Certains animaux, comme les ostracodes ont peu ou pas évolué depuis cette époque. Crustacés de petite taille (0,5 - 3 mm), ils vivent dans le sédiment, et/ou la colonne d'eau. Nous avons étudié la physiologie respiratoire d'ostracodes podocopes sans branchies, ni système circulatoire et d'ostracodes myodocopes, équipés de branchies et d'un système circulatoire. Nous montrons que lorsque l'oxygénation de l'eau varie, ces animaux sont incapables d'adapter leur ventilation et/ou leur activité cardiaque contrairement aux crustacés, poissons et mammifères actuels qui maintiennent ainsi une PO₂ tissulaire originelle à 1-3 kPa. Par contre, ils adoptent une stratégie comportementale en migrant dans les sédiments (podocopes) où en fabriquant des nids (myodocopes), qui leur permettent de réguler indirectement l'oxygénation de leurs cellules. Les caprellidés, crustacés plus récents, colonisent à quelques millimètres près le même biotope. Nous les avons observés pour la 1^{ère} fois vivant et montrés que, positionnés dans une eau où PO₂ ≈ 15 kPa, ils possèdent des branchies peu favorables aux échanges gazeux alors qu'O₂ et CO₂ doivent diffuser principalement à travers leur corps. C'est vraisemblablement l'intensité de leurs mouvements qui contrôle leurs échanges gazeux et l'oxygénation de leurs tissus. Deux types d'ostracodes sont utilisés en paléocéanographie en tant que paléomarqueurs d'oxygénation des fonds marins. Nous n'avons trouvé aucune base physiologique entre taille des vestibules de *Krithes* et stratégie d'oxygénation de l'animal. Par contre, les *Cytherellidae* possèderaient des caractéristiques ventilatoire et morpho-fonctionnelles qui peuvent rendre compte d'une résistance accrue aux faibles oxygénations de l'eau.

Mots clés : crustacés, ostracodes, caprellidés, oxygène, respiration, adaptation comportementale

On Earth, 500 million years ago, an O₂ rise from a partial pressure (PO₂) of ≈1-3 to 21 kPa (present value) accompanied the life explosion in the lower Cambrian. To understand how the first animals faced this major change is a fundamental challenge. Some animals, such as ostracods have been established since that time. They are minute crustaceans (0.5-3 mm), which are either living in the sediment and/or the water column. We studied the respiratory physiology of Podocopid ostracods, which lack gills and heart, and Myodocopid ostracods, equipped with gills, heart and circulatory system. We show that when water PO₂ varies, these animals are unable to adapt their ventilation and/or cardiac activity contrary to modern crustaceans, fish and mammals that maintain an original tissue PO₂ of ≈1-3 kPa. However, they regulate their tissue O₂ status by behavioural adaptation: Podocops adjust their tissue O₂ status by migrating to sediment layers where the pore water PO₂ is 3-5 kPa; Myodocops build nests where they are rebreathing in an hypoxic environment during daytime. Caprellids are more recent crustaceans colonizing the same biotope at water PO₂ ≈15 kPa. We present the 1st report on living animals. They have small gills unfavourable to gas exchange whereas O₂ and CO₂ must diffuse through their thin body wall. We suggest that their body movement likely controls gas exchanges. Finally, we studied two types of ostracods used in paleoceanography as paleo-markers for bottom water oxygenation. We did not find any physiological evidence for a direct relationship between *Krithes* vestibule size and O₂-supply mechanisms. However, *Cytherellidae* possess ventilatory and morphofunctional characteristics which could explain an increased resistance to low O₂ by comparison to other ostracods.

Key words: crustaceans, ostracods, caprellids, oxygen, breathing, behavioural adaptation