

10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975. Vol. 2:85-110

*Etude de la nutrition, du régime
et du rythme alimentaire du zooplancton
dans les conditions naturelles, par la mesure
des activités enzymatiques digestives**

J. Boucher, A. Laurec, J.-F. Samain, et S. L. Smith^{1,2}

Centre Océanologique de Bretagne, Centre National pour l'Exploitation des Océans, B. P. 337, 29273
Brest Cédex, France

et

¹ Duke University Marine Laboratory, Beaufort, North Carolina 28516, U.S.A.

Abstract

*Study of the nutrition, the feeding regime and rhythm
of the zooplankton under the natural conditions,
through measurement of the digestive enzymatic activities*

— The amylase and trypsin activity of the most important zooplankton species has been measured in the upwelling zone of the Spanish Sahara during the "Gibraltar ecophysiological cruise" of the oceanographic vessel Jean Charcot. The analysis of the results was carried out for the double purpose of demonstrating the regulation by the nutrition of the activities of digestive enzymes and utilizing these results to study the feeding behavior under the natural environmental conditions of an ecosystem.

With regard to its biological significance, the influence of the quality and quantity of food available has been demonstrated by a double experimental approach followed by a statistical one. Significant correlations were found between the specific amylase activity and the rates of ingestion and assimilation. An adaptation of amylase- and trypsin activity to the quantity and the quality of food available had been shown. This adaptation allows the organisms to maintain an optimum digestive efficiency. The statistical analysis of the *in situ* results shows the relationship between the digestive enzymatic activities and certain characteristics of the food (particles) available. —

* Contribution no. 423 du Département Scientifique du Centre Océanologique de Bretagne.

² L'un des auteurs a bénéficié du soutien financier partiel d'un contrat N.S.F. Gx 33502.

The dimension of the particles and their chemical composition seem to be preponderant.

The alimentary regime and rhythm are described from the ecological point of view. The regime was analysed for each of the eight species of copepods and the cladoceran studied. From the characteristics of the food ingested and the respective variations in the amylase and trypsin, which do not seem to be correlated, one can conclude the nature of the food ingested. The species studied appear to be omnivorous with carnivorous tendencies for *Oncaea sp.* and *Podon intermedius*, and herbivorous for *Calanoides carinatus*, *Acartia clausi* and *Pleuromamma gracilis*.

A feeding rhythm which is regulated by external factors (trophic conditions) was demonstrated. The constancy of its periodicity with respect to the variation of the external conditions, as shown by the repetition of the measurements in, an oceanic zone 50 miles wide, forces one to also admit the existence of internal factors. It is a nycthemeral feeding rhythm.

Résumé

—L'activité de l'amylase et de la trypsine des principales espèces du zooplancton a été mesurée dans la zone d'upwelling du Sahara espagnol au cours de la campagne d'écophysiologie Gibraltar, du N. O. Jean Charcot. L'analyse des résultats est menée dans la double optique de montrer les régulations des activités enzymatiques digestives par la nutrition et d'utiliser ces résultats pour l'étude du comportement alimentaire dans les conditions naturelles d'un écosystème.

Au point de vue de la signification biologique, l'influence de la quantité et de la qualité de nourriture disponible est mise en évidence par une double approche expérimentale puis statistique. Des corrélations significatives lient l'activité spécifique de l'amylase aux taux d'ingestion et d'assimilation. Une adaptation des activités amylasique et trypsique à une variation de la quantité et de la qualité de nourriture disponible est mise en évidence. Cette adaptation permet aux individus de conserver une efficacité optimale de la digestion. L'analyse statistique des résultats obtenus in situ montre la relation liant les activités enzymatiques digestives à certaines caractéristiques de la nourriture (particules) disponible. La taille des particules et leur composition chimique apparaissent comme prépondérantes. —

Du point de vue écologique, le régime et le rythme alimentaire sont décrits. Le régime est analysé pour chacune des huit espèces de Copépodes et du Cladocère étudié. Les caractéristiques de la nourriture disponible et les variations respectives de l'amylase et de la trypsine, qui ne présentent pas de corrélation, permettent de conclure quant à la nature de la nourriture ingérée. Les espèces étudiées apparaissent comme omnivores avec des tendances carnivores pour *Oncaea sp.* et *Podon intermedius* herbivores pour *Calanoides carinatus*, *Acartia clausi*, et *Pleuromamma gracilis*.

Un rythme alimentaire est mis en évidence. Ce rythme est régulé par des facteurs externes (conditions trophiques). La constance de sa périodicité devant la variation des conditions externes traduite par la répétition des mesures sur une zone océanique de 50 milles de côté, nécessite d'admettre également l'existence de facteurs internes de régulation. C'est un rythme nycthémeral de nutrition.

Introduction

L'étude du rôle du zooplancton et plus particulièrement des Copépodes, dans le fonctionnement d'un écosystème, nécessite des mesures de la nutrition. En fait, des petites variations de grazing ont une influence capitale sur l'équilibre du système (Steele, 1974).

De nombreux travaux ont été consacrés à ces problèmes de nutrition. Cependant, la plupart des résultats ont été obtenus après expérimentation sur des animaux conservés en élevage, ce qui hypothèque la possibilité d'utiliser ces mesures pour expliquer les processus naturels. En effet, retranchés des conditions du milieu naturel, les zooplanc-
tontes présentent *in vitro* des stress, des adaptations, des mécanismes d'auto-régulations qui se traduisent par des variations des taux physiologiques dont on ne mesure que le résultat.

Pour s'affranchir de ces erreurs méthodologiques, nous avons recherché une méthode de mesure de la nutrition des individus dans les conditions du milieu. Le principe consiste à mesurer les mécanismes cellulaires de régulation du métabolisme intermédiaire, correspondant au taux physiologique que l'on désire quantifier. Barrington (1962) rapporte de nombreuses relations entre les activités enzymatiques digestives des invertébrés et les conditions de nutrition. Au cours de travaux antérieurs, nous avons établi l'existence de telles relations pour les principales espèces composant le zooplankton (Boucher et Samain, 1974, 1975). Parallèlement, les mécanismes de régulation des activités enzymatiques digestives ont été étudiées expérimentalement pour *Artemia salina* L. (Samain *et al.*, 1976).

Nous proposons donc d'utiliser la mesure de l'activité de deux enzymes digestives: l'amylase et la trypsine, pour mesurer la nutrition. Cette mesure est effectuée sur les animaux dès leur capture. Compte-tenu de la vitesse de synthèse et de dilution de ces enzymes, elle permet une estimation de l'activité trophique des organismes au moment de leur capture.

Une mesure de la nutrition utilisant cette méthode biochimique de mesure a été réalisée pour les Copépodes et les Cladocères planctoniques au cours de la campagne Gibraltar 1975 du N. O. Jean Charcot, consacrée à l'écophysiologie pélagique. Les mesures ont été réalisées durant cette campagne dans le double but de mettre en évidence la régulation des activités enzymatiques digestives par la nutrition et de décrire le comportement alimentaire de quelques espèces du mesozooplancton. Dans cette optique on vérifiera *in vitro* l'existence d'une relation quantitative entre l'activité spécifique de l'amylase et les taux d'ingestion et d'assimilation. L'analyse *in situ* des variations d'activité de l'amylase et de la trypsine en fonction des conditions trophiques et du rythme journalier sera ensuite utilisée pour décrire le régime alimentaire et mettre en évidence une alimentation périodique du meso-zooplancton.

Matériel et méthodes

Prélèvements de zooplancton

Les prélèvements ont été réalisés du 27 mars au 29 avril dans la zone d'upwelling du Sahara espagnol ($21^{\circ} 30' N$, $17^{\circ} 10' W$). Le zooplankton est récolté par pêche horizontale de 5 min au filet type WP2 ($200 \mu m$ de vide de maille) ou F.A.O. ($300 \mu m$ de vide de maille). Les pêches ont été réalisées simultanément à trois profondeurs (surface, 30 m et fond ou 100 m). Cette série de prélèvements est répétée périodiquement toutes les 4 heures pendant 36 à 72 heures en points fixes (zones A, B, C, D, E) ou suivant le parcours d'une bouée dérivant avec la masse d'eau de surface (zone F). Les zones de prélèvements (Fig. 1) ont été choisies de manière à présenter le maximum de variation des conditions écologiques et biologiques pour la zone d'étude.

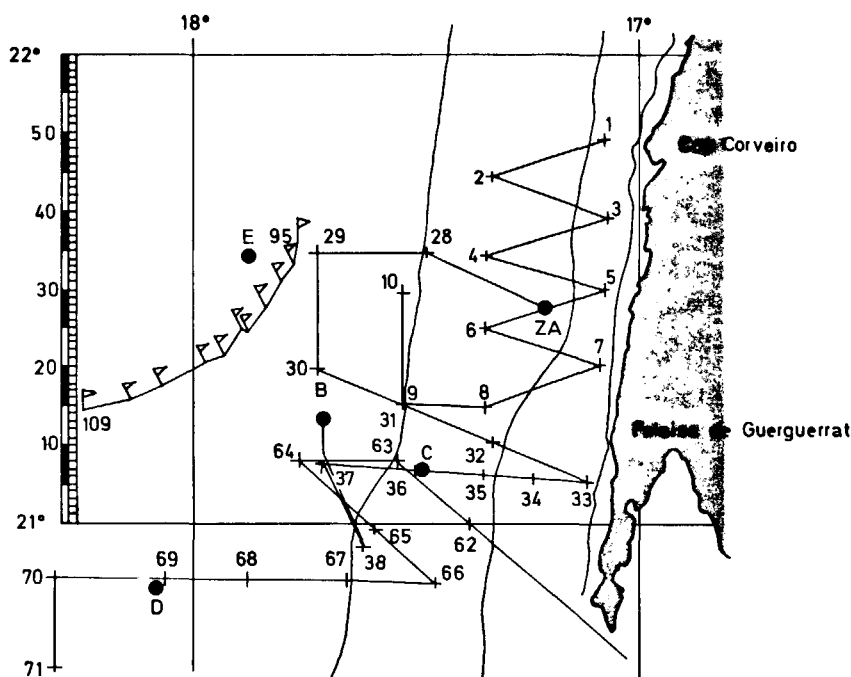


FIG. 1. Disposition des zones de prélèvement (A, B, C, D, E), des prospections (+ — +) et du trajet de la bouée dérivante (P) au cours de la campagne Gibraltar du N.O. Jean Charcot.

Des lots d'individus des espèces les plus abondantes sont triés à la pipette dans chacun des prélèvements. Une aliquote de chaque prélèvement est fixée au formol et conservée pour une numération faunistique ultérieure. Les lots d'individus adultes triés sont utilisés pour déterminer les activités enzymatiques digestives des différentes espèces au moment de leur capture. Les lots supplémentaires sont conservés en élevage à bord pour expérimentation sur la nutrition.

Expérimentation (in vitro)

Les individus triés sont conservés dans l'eau de mer filtrée, à température constante voisine de celle du lieu de prélèvement. Après un délai de 2-5 heures des lots de 50 individus de même origine sont transférés dans des bouteilles inactiniques contenant 210 ml d'eau de mer filtrée (0.45 µm) enrichie d'une culture de phytoplancton. La concentration en cellules du milieu d'élevage est de $2.2-2.5 \times 10^4$ cellules/ml (1.2 µg C/ml). Ce phytoplancton provient d'une culture de *Tetraselmis suecica* Butcher avec enrichissement en sels nutritifs selon Guillard et Ryther (1962) en présence de carbone radioactif (40 µCi/ml) ajouté sous forme de $\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$, jusqu'à ce que la culture soit uniformément marquée. Des flacons témoins ne contenant pas d'animaux sont préparés simultanément, de la même manière. La suspension des cellules et l'oxygénation sont assurées par un bullage d'air comprimé. L'ensemble des flacons ainsi préparés est conservé à l'obscurité. Leur nombre permet de répéter les mesures toutes les quatre heures pendant 1-2 jours.

A chaque mesure, les animaux sont séparés du milieu d'élevage. Des aliquotes du milieu (essai et témoin) sont prélevées pour numération du nombre de cellules. La quantité de cellules ingérées par intervalle de quatre heures est déduite du nombre de cellules présentés dans les flacons essai et témoin en tenant compte de leur évolution au cours de l'expérience.

Un nombre de 40 individus est homogénéisé au broyeur de Thomas pour mesurer des activités de l'amylase et de la trypsine. Les 10 individus restants sont transférés à raison d'un par flacon dans 10 ml d'eau de mer filtrée (0.22 µm). Un délai de 4-12 heures est observé pour l'excrétion du contenu du tube digestif. Au terme de ce délai chaque animal et les pelotes fécales produites sont recueillis séparément sur filtre Millipore, rincés à l'eau de mer acidifiée par 0.01 NHCl puis desséchés à 55 °C. Un comptage de radioactivité est réalisé pour chacun des deux filtres (compteur à scintillation liquide Beckmann LS 133). La radioactivité des échantillons est convertie en teneur de carbone par étalonnage de ces deux paramètres sur la culture de phytoplancton utilisée comme source de nourriture. Le carbone organique particulaire est mesuré par un dosage adapté de la méthode de Menzel et Vaccaro (1964).

Cette stratégie a été adoptée pour rendre compatible les trois types de mesures et permettre leur comparaison. La méthodologie utilisée pour mesurer les taux d'ingestion et d'assimilation implique un certain nombre d'erreurs qui ont déjà été analysées, notamment pour la méthode utilisant les éléments radioactifs par Conover et Francis (1973). Il en résulte que les valeurs absolues ainsi déterminées sont peu précises. Cependant ces difficultés ne diminuent pas la précision des valeurs relatives qui nous importent pour la comparaison des différents types de mesures.

Etude in situ

Les différents lots d'individus de même espèce isolés de chaque prélèvement sont aussitôt broyés à 5 °C (broyeur de Thomas). Les activités enzymatiques sont mesurées sur chacun de ces homogénats. La quantité de protéines de l'extrait brut est mesurée

selon la méthode de Lowry (1951). L'activité de l'amylase est mesurée par iodométrie. L'ensemble de ces analyses et la préparation des échantillons ont fait l'objet d'une adaptation des méthodes à la nature particulière du matériel biologique utilisé (Samain et Boucher, 1974). L'activité trypsique est mesurée par dosage de la nitroaniline libérée après hydrolyse enzymatique du pseudo-substrat spécifique L. Bapna. (N α benzoyl L arginine 4 nitro aniline). Les conditions de la mesure ont été ajustées après détermination des propriétés physicochimiques de l'enzyme (substrat 1.74 mg/ml, tampon Tris 0.05 M, pH 8.0, température 50 °C). Une série de prélèvements à la bouteille de 30 l est réalisée juste avant les pêches de zooplancton et aux mêmes profondeurs, pour la mesure des caractéristiques du matériel particulaire en suspension. Le nombre de particules par classe de tailles (5-10 μ m, 10-20 μ m, 20-50 μ m et supérieure à 50 μ m) est analysé au Coulter counter. Après filtration sur Millipore (0.45 μ m) la quantité de protéines, d'amidon, de glucides et de chlorophylle *a* de la matière particulaire est mesurée (J. R. Grall, A. G. Martin et C. Riaux ont réalisé ces mesures à bord du navire. Les méthodes et les résultats obtenus feront l'objet d'une analyse distincte).

Résultats

Signification biologique des activités enzymatiques digestives: relations avec la nutrition

1. Approche expérimentale

A. Etude expérimentale (in vitro), relation quantitative

La comparaison des mesures simultanées de l'activité amylasique, du taux d'ingestion et du taux d'assimilation faites sur les élevages met en évidence une relation quantitative directe entre ces trois paramètres.

L'activité spécifique de l'amylase est corrélée positivement avec la quantité de cellules phytoplanctoniques ingérées (Fig. 2). Le coefficient de corrélation $r = 0.538$ est significatif au seuil 2 %.

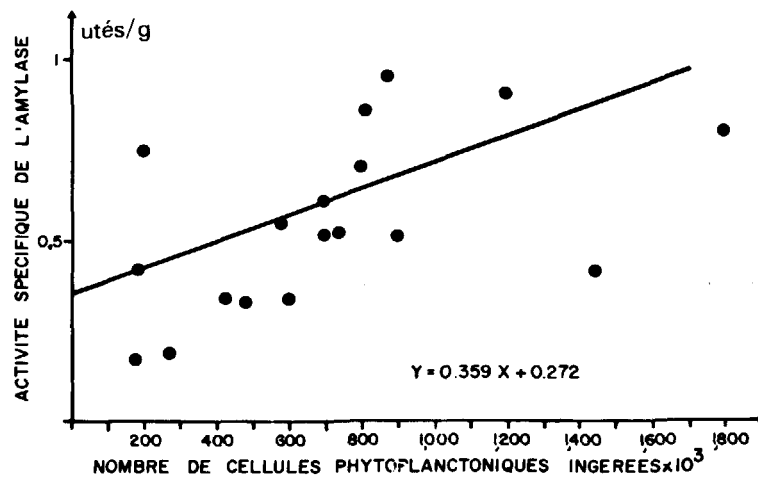


FIG. 2. Corrélation de l'activité spécifique de l'amylase et de la quantité de cellules phytoplanctoniques ingérées, mesurées sur les élevages; $r = 0.538$ significatif au seuil 2 %.

Une relation semblable est mise en évidence entre l'activité spécifique de l'amylase et la quantité de carbone assimilé. La corrélation ($r = 0.934$) est significative au seuil 0.1 % (Fig. 3).

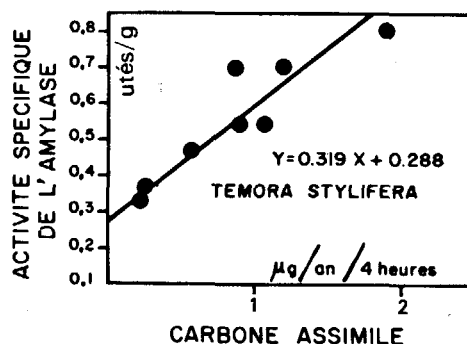


FIG. 3. Corrélation de l'activité spécifique de l'amylase et de la quantité de carbone assimilé, mesurées en élevage; $r = 0.934$ significatif au seuil 0.1 %.

La première corrélation est établie à partir des résultats de dix expériences utilisant des *Temora stylifera* prélevés dans les diverses situations écologiques étudiées. Pour la deuxième corrélation, les résultats ont été obtenus à partir de deux expériences utilisant des *T. stylifera* capturés en une même station. Les différences dans le nombre de mesures ainsi que l'amplitude différente des deux paramètres explicatifs, taux d'ingestion et taux d'assimilation, ne permettent pas de comparer les significativités des deux corrélations. Il est cependant possible que la variation de physiologie suivant l'évolution des conditions écologiques intervienne comme une cause d'explication de la relation déterminée par la première corrélation. Les deux relations obtenues illustrent l'augmentation de l'activité amylasique avec le taux d'ingestion ou d'assimilation et justifient son emploi pour comparer l'activité trophique *in situ*, des zooplanctontes.

B. Relations qualitatives

Nous mettrons tout d'abord en évidence les capacités d'adaptation de l'activité de l'équipement enzymatique digestif à des variations de la nourriture disponible. Une telle adaptation des activités enzymatiques digestives à des variations de la teneur en protéine et en amidon de la nourriture a déjà été mise en évidence pour la crevette *Penaeus kerathurus* Forsskal (Van Wormhoudt, 1974). Dans notre étude, ceci est suggéré par la comparaison des activités enzymatiques de *Temora stylifera* (Dana) dans le milieu naturel avec une source de nourriture diversifiée mais peu abondante et après transfert dans un milieu expérimental avec une nourriture abondante monospécifique (*Tetraselmis suecica*).

Les mêmes paramètres sont mesurés sur des *T. stylifera* au moment de leur capture puis sur des individus du même prélèvement, conservés à l'obscurité et à température constante voisine de celle de la profondeur de capture. La comparaison du poids de seston et du poids de protéines des particules en suspension avec le poids de matière

organique dans le milieu d'élevage, des taux d'assimilation et des activités amylasique et trypsique est résumée dans le Tableau I. Il apparaît lorsque l'on passe du régime naturel à un régime phytoplanctonné monospécifique abondant, que l'activité amylasique est multipliée par un facteur 2 tandis que l'activité trypsique est divisée par 5. L'efficacité théorique d'assimilation correspondant à la quantité de nourriture assimilée par minute, par action conjuguée des deux enzymes, reste du même ordre de grandeur. Ceci pourrait correspondre à une adaptation de l'activité des enzymes digestives à la nature de la nourriture disponible, permettant une efficacité optimale de la digestion.

TABLEAU I

Comparaison des mesures en élevage de la quantité de nourriture disponible et des activités digestives avec les valeurs mesurées dans les conditions naturelles pour des *Temora stylifera* de même origine

	<i>Temora stylifera</i>	
	<i>In vivo</i> (milieu naturel)	<i>In vitro</i> (élevage)
Quantité de nourriture disponible	0.18 µg/ml de protéines 1,023 µg/ml de seston	2.3 × 10 ⁴ cellules/ml 1.16 µg C/ml
Poids de matière assimilée	1.25 µg C/an/jour (estimé de l'activité spécifique de l'amylase)	3.0 µg C/an/jour
Activité spécifique de l'amylase	0.393 utés/mg	0.698 utés/mg
Activité spécifique de la trypsine	0.078 mg prot./mg	0.016 mg prot./mg
Efficacité théorique d'assimilation	0.566 µg/min	0.733 µg/min

Cette capacité d'adaptation permettrait d'expliquer comment les Copépodes parviennent à satisfaire les besoins métaboliques élevés que l'on peut mesurer en élevage (Gaudy, 1974) à partir de la quantité de nourriture très faible, disponible dans le milieu naturel.

Une standardisation exhaustive de cette méthodologie biochimique de mesure de la nutrition nécessiterait d'étendre l'expérimentation aux diverses espèces du zooplancton pour quantifier et hiérarchiser les facteurs explicatifs. Ceci nécessiterait un lourd protocole expérimental et une sophistication des méthodes qui peut être évité en partie. Dans ce but, nous utiliserons une seconde approche pour caractériser les facteurs régulant l'activité enzymatique digestive: l'analyse statistique des mesures effectuées dans le milieu naturel.

2. Exploitation statistique des données collectées in situ

A. Remarques méthodologiques

Le traitement qui va être présenté repose sur les méthodes classiques de régression simple ou multiple, de corrélation totale ou partielle. Quelques remarques s'imposent à propos de l'utilisation de ces méthodes. La corrélation n'implique nullement la causalité. Ceci est d'autant plus vrai que l'on ne dispose pas en général de tous les paramètres souhaitables, et une corrélation entre deux paramètres peut être due à la liaison de ces deux paramètres avec un troisième, absent de l'étude.

Les modèles utilisés sont linéaires. Lorsqu'une corrélation simple est étudiée, un graphique bi-dimensionnel s'avère précieux pour détecter *de visu* d'éventuelles non linéarités.

La non linéarité peut encore être étudiée par l'utilisation de modèles polynomiaux et par le test de l'utilité des termes non linéaires.

De façon générale, il est extrêmement utile, comme le soulignent Draper et Smith (1966), de procéder à des études des liens des résidus avec les variables explicatives comme avec les valeurs prédites.

Bien évidemment, des transformations préalables des données peuvent être envisagées, par exemple en logarithmes pour aboutir à des modèles multiplicatifs et non additifs dans les régressions multiples. Mais il faut bien se garder de conclure à la nécessité d'une transformation au simple vu de l'augmentation des coefficients de corrélation. Une transformation implique l'utilisation d'un modèle nouveau, et c'est l'adéquation des modèles qui s'étudie comme il a été dit par un examen détaillé des résidus et de leur éventuel lien avec les différentes variables explicatives comme avec les valeurs prédites.

L'inférence statistique, qui se fait essentiellement à l'aide de test-F où de tests qui s'y ramènent, repose: 1) sur l'adéquation des modèles; 2) sur la normalité des résidus, et 3) sur l'indépendance stochastique des divers résidus.

Le point 1) a déjà été discuté. Le point 2) a été étudié sur les données traitées en traçant l'histogramme des résidus. En règle générale, une légère dissymétrie apparaît dans la distribution des résidus. Ces écarts de distribution diminueront plus vite avec les valeurs négatives. Les résidus importants en valeur absolue sont positifs, et correspondent donc à des pics d'activité inexpliqués. Le phénomène auquel en toute rigueur on pourrait remédier par l'utilisation de méthodes non paramétriques nous semble toutefois d'importance mineure vis-à-vis du point 3). Ce point, qui est souvent négligé, est en effet d'une importance capitale, toutes les inférences classiques reposant sur l'indépendance stochastique des différents échantillons. Or dans les exemples présentés, comme dans de nombreuses données océanographiques qu'il nous a été donné de traiter, cette condition n'est pas respectée. On s'en aperçoit en reportant sur un graphique la série des résidus. Il apparaît ainsi nettement une corrélation entre résidus successifs, ce que confirme le calcul de la fonction d'autocorrélation. En toute rigueur, il faudrait donc pouvoir faire appel aux séries temporelles et aux méthodes d'ajustement des modèles comme aux tests présentés par Box et Jenkins (1972). Les contraintes matérielles du travail à la mer rendent cependant difficiles la nécessaire

régularité du pas d'échantillonnage. Le problème posé est très général en océanographie, car dû à ce que de nombreux paramètres sont distribués spatialement avec une certaine continuité. En pratique ceci signifie que la valeur de ces paramètres à un endroit dépend de leur valeur dans le voisinage. La corrélation, dans nos exemples, des résidus successifs, provient probablement de la proximité spatiale des points de numéros d'ordre voisins.

Ceci diminue de beaucoup la valeur des inférences et ceci d'autant plus que la dépendance entre résidus est marquée. Un traitement rigoureux est hors de portée, les tests de signification doivent donc être interprétés avec prudence.

Ils fournissent cependant une indication précieuse, au moins en indiquant qu'une corrélation n'est pas significative. Elle le serait probablement encore moins si un test rigoureux était disponible. Lorsqu'un test paraît significatif, la prudence conduit à s'assurer que la valeur trouvée serait significative avec un nombre de degrés de liberté très inférieur à celui que donne le calcul à partir du nombre d'échantillons.

En définitive donc, le traitement des données demeure utile en montrant qu'un modèle explicatif est préférable à un autre, les inférences devant être considérées avec prudence.

B. Résultat des traitements

a. Corrélations

Des coefficients de corrélation multiple significatifs ont été mis en évidence pour les variations d'activité spécifique de l'amylase et de la trypsine pour les neuf espèces étudiées, en fonction des paramètres écologiques mesurés: le poids d'amidon, de glucides, de protéines et de chlorophylle *a* en $\mu\text{g/l}$ dans la matière particulaire en suspension, le nombre de particules par classe de taille 2-5 μm , 5-20 μm , 20-50 μm et 50-70 μm . L'ensemble de ces paramètres caractérise les conditions trophiques du milieu. Un paramètre écologique de portée plus générale est également utilisé: la température.

Seules deux de ces relations ont résisté à l'épreuve des tests de significativité et aux critères de prudence énumérés au chapitre précédent. Bien que l'ensemble des corrélations obtenues permette d'obtenir une information supplémentaire, nous nous limiterons à l'exposé de ces deux relations. On essaiera donc, pour *Calanoides carinatus* (Krøyer) et *Temora stylifera* d'expliquer les variations d'activité enzymatique digestive par les paramètres écologiques et trophiques mesurés.

Calanoides carinatus: sur un échantillon de 68 points de mesure, on obtient avec l'activité amyliasique les corrélations simples qui sont résumées dans le Tableau II.

Il apparaît une forte corrélation avec la température dont la significativité ne semble pas contestable. Toutefois, le problème d'une action directe ou indirecte de la température se pose. En utilisant des régressions multiples avec les paramètres mesurés hormis la température, on n'obtient jamais de coefficient de corrélation multiple aussi élevé que le coefficient de corrélation simple avec la température. Le rôle de la température apparaît donc comme essentiel.

TABLEAU II
Coefficients de corrélations de l'activité spécifique
de l'amylase et de la trypsine avec les paramètres du milieu

	<i>Calanoides carinatus</i>		<i>Temora stylifera</i>	
	Activité spécifique de l'amylase	Activité spécifique de la trypsine	Activité spécifique de l'amylase	Activité spécifique de la trypsine
Nombre de particules taille 2-5 µm:T1	0.17	0.12	0.12	0.33 ^a
Nombre de particules taille 5-20 µm:T2	0.28 ^a	0.24 ^a	0.04	0.33 ^a
Nombre de particules taille 20-50 µm:T3	0.08	0.14	-0.04	-0.07
Nombre de particules taille 50-70 µm:T4	-0.07	-0.04	-0.13	0.03
Poids d'amidon (µg/l):A	0.21	0.01	0.06	-0.07
Poids de glucide (µg/l):G	-0.08	-0.12	0.13	-0.10
Poids de protéines (µg/l):P	-0.08	-0.08	0.10	-0.10
Poids de chlorophylle (µg/l):Chl.a	-0.35 ^a	-0.27 ^a	0.09	-0.19
Température:T°	0.62 ^a	0.21	0.05	0.10
Nombre d'échantillons	68	68	86	84

^a Coefficients significatifs au seuil 5 %.

On recherchera ensuite si d'autres paramètres parmi ceux étudiés ont une influence sur cette activité. La corrélation simple calculée avec le nombre de particules de taille 5-20 µm (T 2) ne suffit pas dans la mesure où T 2 est lui-même corrélé à la température. Il faut donc avoir recours aux coefficients de corrélation partielle pour éliminer l'influence de la température (Tableau III).

TABLEAU III
Coefficients de corrélations partielles de l'activité spécifique de l'amylase de *Calanoides carinatus*
avec les paramètres explicatifs lorsque l'influence de la température est soustraite

	T1	T2	T3	T4	A	G	P	Chl.a
Activité spécifique amylase sans influence de T°	0.34	0.31	0.05	0.11	-0.25	-0.16	-0.23	-0.30

Le nombre de particules des deux premières catégories de taille (T 1 et T 2) ainsi que la chlorophylle a à un degré moindre présentent des coefficients significatifs à 5 %. Il apparaît donc que l'activité amylasique est liée à l'abondance des particules les plus fines. Il est intéressant de noter que dans les corrélations simples (cf. Tableau II), ces paramètres n'apparaissent pas comme facteurs explicatifs, l'influence de la

température venant masquer les relations. Le calcul de corrélations partielles supplémentaires en éliminant l'influence de ces paramètres (T° , T_1 et T_2) ne permet pas d'envisager l'action d'autres paramètres explicatifs parmi ceux qui ont été mesurés.

Avant de clore cette première analyse, nous envisagerons une dernière objection quant à l'élimination de l'influence de la température qui pourrait être non linéaire. La représentation graphique ne suggère pas une telle non linéarité et l'introduction d'un terme quadratique n'apporte pas d'amélioration significative des corrélations et régressions.

Pour l'activité trypsique, les coefficients de corrélation simple sont résumés dans le Tableau II. Les paramètres explicatifs avec coefficient significatif sont les mêmes que ceux mis en évidence pour l'activité amylasique. Les corrélations multiples et partielles mettent en évidence des explications similaires: influence de la taille des petites particules et à un degré moindre de la température. Il faut remarquer que la corrélation entre activités spécifiques de l'amylase et de la trypsine n'est pas significative.

Temora stylifera: la même analyse est réalisée. Dans le cas de cette espèce, il apparaît pour l'activité spécifique de la trypsine une influence des particules des deux petites tailles (T_1 et T_2) (cf. Tableau II). Les coefficients de corrélation sont comparables aux coefficients de corrélation partielle pour l'activité spécifique de l'amylase chez *Calanoides carinatus* après élimination de la température. L'introduction d'autres paramètres parmi ceux mesurés n'apporte aucune amélioration significative de l'explication de l'activité trypsique.

Cette série d'analyse des corrélations permet de mettre en évidence l'importance de deux types de paramètres explicatifs des variations d'activité spécifique des enzymes digestives: l'un, la température, traduit une influence physiologique ou écologique; l'autre, la taille des particules disponibles, est un facteur trophique.

Le type d'échantillonnage utilisé, compte tenu de sa discontinuité spatiale, ne permet pas une exploitation plus approfondie par cette méthode d'analyse des corrélations. Nous utiliserons donc un second type de traitement permettant une spatialisation de l'information.

b. Analyse factorielle

On cherche alors à définir quelques zones à caractéristiques trophiques typiques. Pour chacune de ces zones, la moyenne de chacun des paramètres mesurés sera calculée et l'on raisonnera avec le même nombre de points que de zones caractéristiques définies.

Pour étudier au mieux les variations spatiales de l'ensemble des paramètres explicatifs, une analyse multivariable du type analyse d'inertie a été pratiquée. Les divers paramètres ont été standardisés (centrés et réduits); un recentrage a été pratiqué pour se placer au barycentre du nuage dans l'espace des prélèvements (Chardy *et al.*, sous presse).

Les résultats de cette analyse factorielle sont reportés sur la Fig. 4. Les deux premiers vecteurs extraient respectivement 58 et 14 % de la variance. Suivant la distribution des

prélèvements puis des variables dans l'espace dual, nous définissons quatre ensembles typiques I₁, I₂; II₁ et II₂ qui correspondent aux quatre cadrans.

Suivant ces quatre groupes, nous comparerons maintenant les variations des paramètres trophiques aux variations des activités enzymatiques.

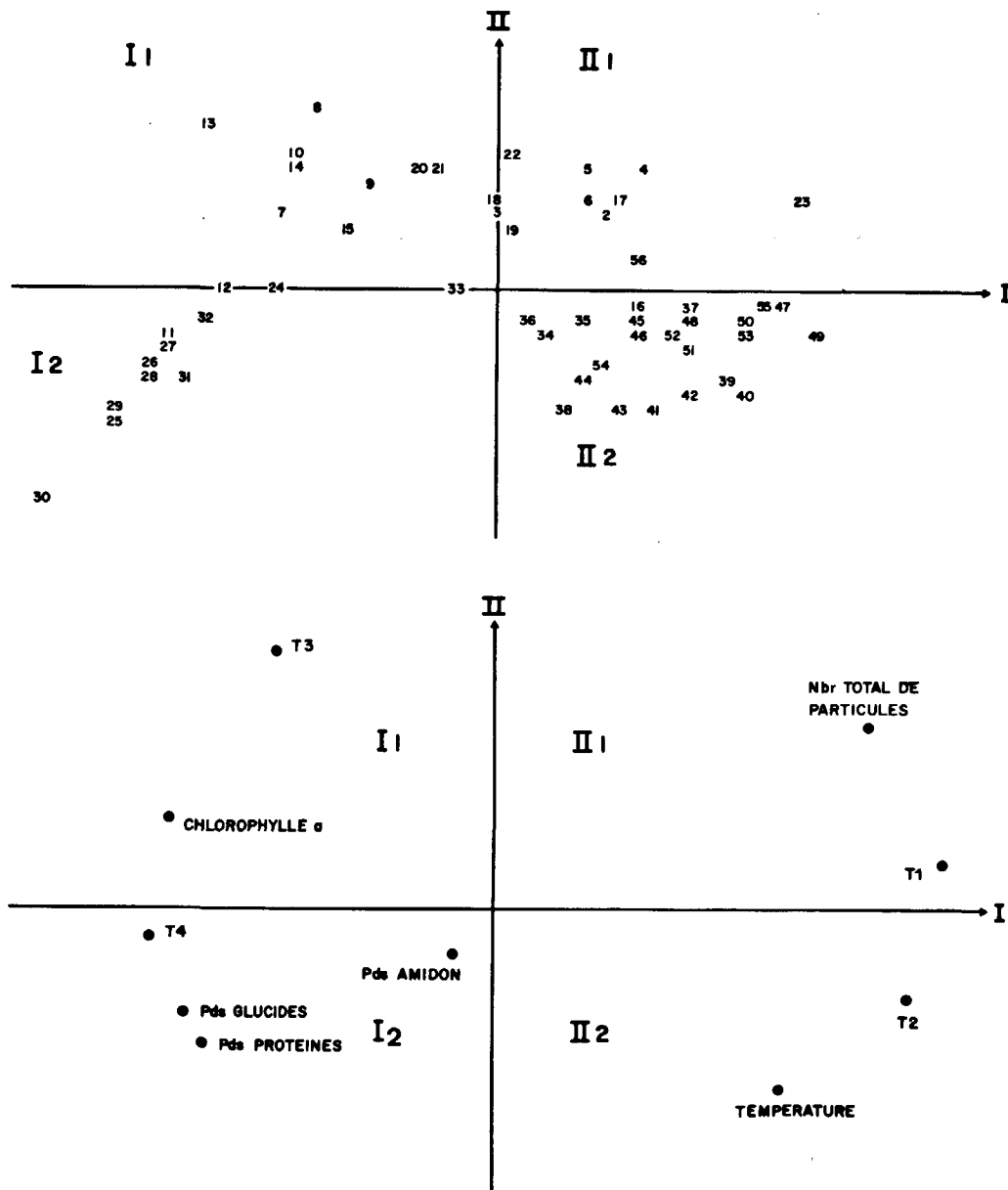


FIG. 4. Définition des quatre groupes I₁, I₂, II₁ et II₂ de points de mesures à caractéristiques similaires des particules, par l'analyse factorielle. T₁: nombre de particules de taille 2-5 µm; T₂: nombre de particules de taille 5-20 µm; T₃: nombre de particules de taille 20-50 µm; T₄: nombre de particules de taille 50-70 µm; A. G. P. chlorophylle a: poids d'amidon, de glucides, de protéines et de chlorophylle a du seston; T°: température.

Les quatre groupes définis peuvent se scinder en deux ensembles I et II qui correspondent à une augmentation du nombre des particules de petite taille; chacun de ces deux ensembles est divisé en deux sous-ensembles I₁ et I₂, II₁ et II₂ pour lesquels on remarque une augmentation du poids de protéine et d'amidon des particules en suspension (Fig. 5). Pour ces quatre mêmes groupes de points de mesures les activités spécifiques de l'amylase et de la trypsine des trois espèces les plus abondantes (*Calanoides carinatus*, *Rhincalanus nasutus* Giesbrecht, *Temora stylifera*) montrent des variations similaires à celles des caractéristiques trophiques. Augmentation générale des activités enzymatiques lorsque l'on passe de l'ensemble I à II; augmentation des activités suivant chacun des sous-groupe I₁ à I₂ et II₁ à II₂. Nous retrouvons ainsi l'in-

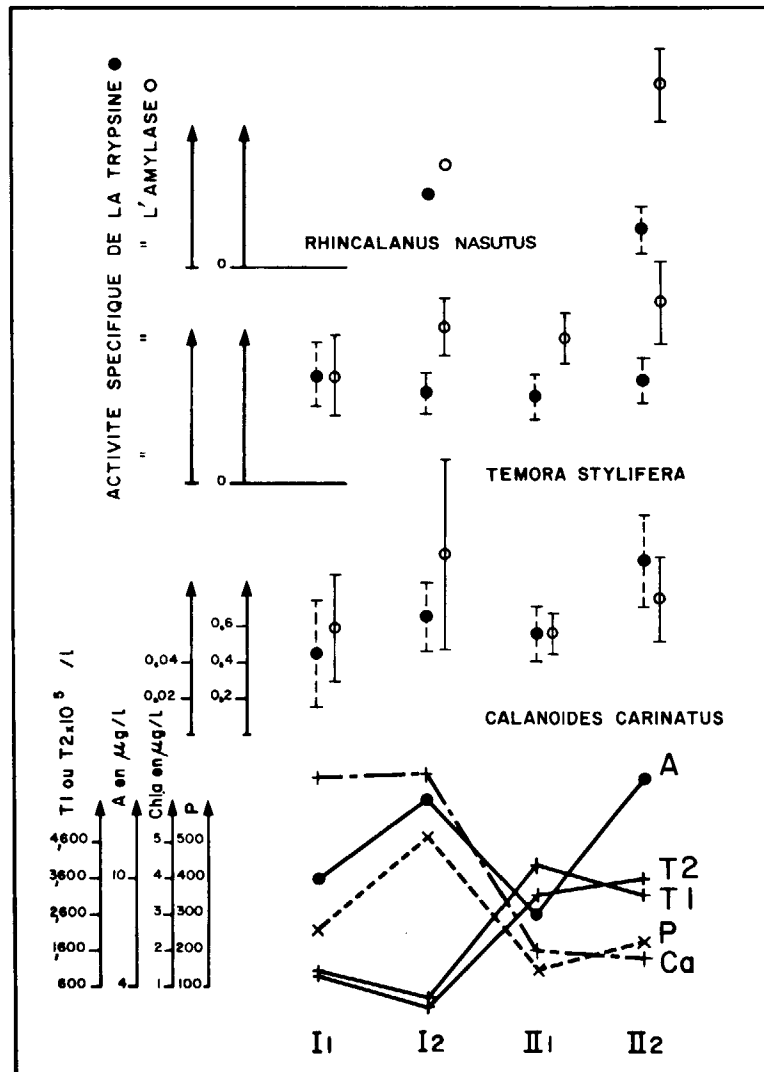


FIG. 5. Comparaison suivant les quatre groupes définis par l'analyse factorielle, des variations des caractéristiques trophiques et des variations d'activité enzymatique digestive de *Calanoides carinatus*, *Temora stylifera* et *Rhincalanus nasutus*.

fluence déjà mise en évidence de la quantité de particules de petite taille. Un second paramètre explicatif est maintenant mis en évidence: la composition biochimique des particules. En effet, l'augmentation d'activité de la trypsine et de l'amylase est parallèle à l'augmentation de poids de protéines et d'amidon du seston entre chacun des sous-groupes.

La température n'a pas été prise en compte pour ce traitement. L'influence de ce paramètre est mise en évidence de manière plus directe par l'analyse des corrélations et ses variations ne se superposent, après une telle définition des groupes à caractéristiques similaires, à aucun des paramètres utilisés.

3. Conclusion de la première partie

Cette double analyse expérimentale et statistique des facteurs expliquant les variations d'activité enzymatique digestive nous permet de mettre en évidence quelques mécanismes de régulation. Nous avons montré, par des expériences *in vitro*, l'existence d'une relation quantitative entre ces activités enzymatiques et la nutrition, ainsi que la possibilité d'une influence qualitative de la nature de la nourriture disponible. Ces deux relations sont confirmées par l'analyse statistique des mesures effectuées dans le milieu naturel qui mettent en évidence l'influence de l'abondance et des caractéristiques de certaines particules (tailles de 5-20 μm et composition biochimique) sur les variations d'activité enzymatique digestive. Dans le cas de *Calanoides carinatus*, un autre mécanisme de régulation pourrait intervenir, traduit par l'influence de la température qui peut soit caractériser de manière indirecte l'évolution des conditions écologiques, soit de manière directe un effet physiologique. Il faut remarquer ici que *T. stylifera* est une espèce néritique tandis que *C. carinatus* est océanique. La distribution de cette dernière espèce lors de la campagne, avec des maxima d'abondance vers le large, correspond assez bien au réchauffement des eaux de la zone d'upwelling côtière au large. Cependant, nous ne disposons pas de critère définitif pour choisir entre ces deux hypothèses.

Compte-tenu des critères draconiens de sécurité qui ont été respectés au cours de cette étude en faisant appel à de nombreux tests et en ne conservant que la part la plus évidente de l'information acquise. Ces relations qui expliquent de 10 à 50 % de la variance du phénomène et sont caractérisées par des mesures *in situ*, peuvent être considérées comme crédibles. Naturellement, il est apparu au cours de cette étude que tous les paramètres explicatifs du phénomène n'avaient pas été mesurés ou que l'expression de certains n'était pas adéquate. Il serait par exemple nécessaire de mesurer la composition chimique du stock de particules par classe de tailles. De même, une mesure pour chacune de ces catégories de la part d'origine végétale et détritique est nécessaire. Les faibles corrélations obtenues pour certains cas d'analyse des activités amylasique et tryptique sont certainement dues pour une part à ces imprécisions.

Cette première partie de l'étude a été limitée à la mise en évidence des mécanismes de régulation. De ce point de vue biologique, deux types de mécanismes de régulation, physiologique et trophique, sont mis en évidence. A partir de cette clarification de la signification des activités amylasiques et tryptiques, nous analyserons les résultats obtenus d'un point de vue écologique dans la deuxième partie de cette étude.

Aspects écologiques : le régime et le rythme alimentaire

1. Le régime alimentaire

L'analyse des régressions partielles entre les deux activités enzymatiques lorsque l'on supprime l'influence de la biomasse, ne montre pas de relation directe entre ces deux paramètres. Les coefficients de régression sont généralement très faibles. Cependant, pour *Temora stylifera* (nombre très important de mesures) une tendance générale similaire bien explicable peut être décelée. Nous utiliserons donc, pour discuter le régime alimentaire, les variations d'activité amylasique et trypsique des différentes espèces étudiées ainsi que les paramètres trophiques explicatifs mis en évidence au cours de la première partie de cette étude.

A. *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*

Pour ces deux espèces, ce sont les petites tailles de particules de 5-20 μm qui ont une influence sur l'activité digestive ; nous les considérerons comme constituant l'essentiel de la nourriture ingérée. Ceci est en accord, pour *T. stylifera*, avec les observations de différents auteurs sur son régime observé en élevage. Par contre, le comportement de *C. carinatus* est plus original. On décrit généralement, à partir d'expériences de grazing, utilisant *Calanus helgolandicus* (Claus) à la morphologie très voisine, une filtration sélective de cellules de plus grande taille, de l'ordre de 30 μm (Gaudy, 1974). Cette observation est à rapprocher de celle de Poulet (1974) qui montre une variation saisonnière de la taille des particules filtrées par *Pseudocalanus minutus* (Krøyer). Pour les autres espèces étudiées, aucune des corrélations avec les différentes classes de taille ne sont significatives. Ces espèces ne présentent donc pas de filtration sélective.

B. Comparaison des niveaux moyens d'activité enzymatique

L'activité spécifique de l'amylase et de la trypsine a été mesurée au moment de leur capture sur des lots d'individus de même espèce. Huit espèces de Copépodes: *Calanoides carinatus*, *Rhincalanus nasutus*, *Temora stylifera*, *Pleuromamma gracilis* (Claus), *Centropages typicus* Krøyer), *Candacia sp.*, *Acartia clausi* Giesbrecht, *Oncaea sp.* et une espèce de Cladocères, *Podon intermedius* Lilljeborg, ont été analysées.

Nous avons représenté la moyenne des activités spécifiques de l'amylase et de la trypsine et l'écart type pour l'ensemble des mesures effectuées durant la campagne (Fig. 6). Les espèces sont rangées suivant les valeurs croissantes du rapport amylase-trypsine.

Une activité amylasique (assimilation de l'amidon) et une activité trypsique (assimilation des protéines) a été mise en évidence pour tous les Copépodes et le Cladocère étudiés. Au contraire, l'analyse des Chaetognathes n'a permis de mettre en évidence une activité amylasique que pour quelques espèces et ceci de manière erratique. Aucun des Copépodes et du Cladocère étudiés, susceptibles d'assimiler de l'amidon, ne peut donc être considéré comme un carnivore strict.

Pour *Oncaea* et *Podon intermedius*, les niveaux d'activité trypsique sont élevés. Compte tenu du très faible taux protéique et de la petite biomasse du phytoplancton

disponible, il faut admettre l'ingestion de particules d'origine animale pour expliquer ces hauts niveaux d'activité trypsique.

Rhincalanus nasutus et *Candacia sp.* présentent des activités amylasique et trypsique du même ordre de grandeur. Les autres espèces au contraire montrent une activité amylasique élevée, prépondérante. L'amidon et les glucides étant essentiellement d'origine végétale, cette activité de l'amylase traduirait une tendance herbivore du régime.

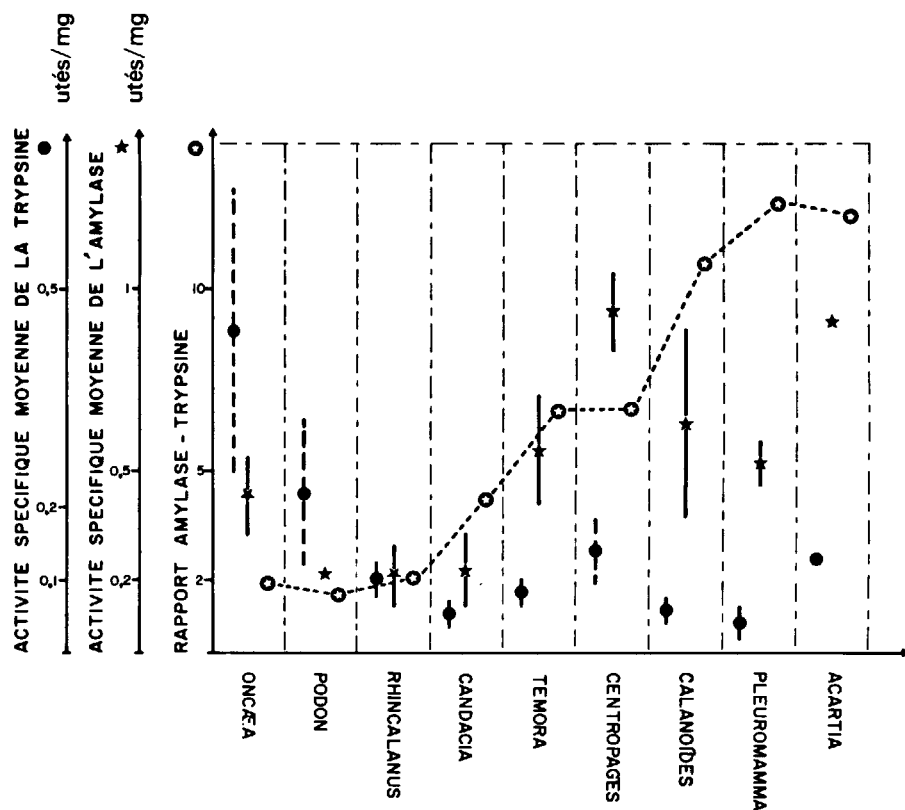


FIG. 6. Comparaison des variations de la moyenne et de l'écart type des activités de l'amylase et de la trypsine, et du rapport amylase-trypsine, pour neuf espèces du méso-zooplancton durant la campagne Gibraltar.

En conclusion, l'ensemble des espèces considérées est capable d'assimiler des particules d'origine animale ou végétale. Une sélection des particules ingérées suivant leur nature, nécessiterait la présence de mécanismes buccaux de capture et de rejet des particules, des organes de goût et un système nerveux très diversifié. Enfin, nous n'avons pas mis en évidence une influence prépondérante d'un type donné de particules qui traduirait un mécanisme très sélectif de filtration. Ceci nous conduit à admettre un régime alimentaire omnivore pour ces organismes. Ce régime peut comporter des tendances carnivores ou herbivores plus ou moins marquées suivant l'abondance et la nature de la nourriture qui peut être captée par les organismes.

2. Rythme alimentaire

Nous avons montré dans la première partie les relations quantitatives et qualitatives qui lient les activités enzymatiques digestives à la quantité de nourriture ingérée disponible. Une augmentation d'activité enzymatique correspond donc à une augmentation d'ingestion. Un rythme d'activité enzymatique traduirait ainsi un rythme alimentaire.

Les mesures effectuées sur des prélèvements verticaux périodiques de mesozooplancton, lors d'une première campagne (CINECA III), ont montré l'existence d'une discontinuité de l'activité enzymatique au cours du temps (Boucher et Samain, 1974).

La répétition des mêmes mesures au cours de campagnes successives permet de retrouver cette discontinuité dans le temps (Fig. 7); elle se traduit par une augmentation nocturne de l'activité spécifique de l'amylase qui est indépendante de la profondeur de pêche. Cependant la comparaison des courbes de variations de l'activité spécifique de l'amylase en fonction du temps (Fig. 7), ne permet pas de mettre en évidence un comportement rythmique. Le rythme apparaît très net au cours de CINECA V, beaucoup moins évident lors des autres campagnes. Ces difficultés d'exploitation peuvent être expliquées par deux causes de variations de l'activité amylasique. Elle est régulée par la quantité de nourriture disponible; mesurée sur l'échantillon total, elle varie avec la composition spécifique de celui-ci (Boucher et Samain, 1975). Afin d'éliminer ces deux causes de variation, une nouvelle stratégie a été utilisée lors de la campagne Gibraltar.

A. Mise en évidence du rythme

Les mesures sont effectuées sur des lots d'individus de même espèce. Les résultats de ces mesures sont standardisés pour être comparables, quelques soient les conditions trophiques du lieu de prélèvement. La standardisation adoptée est l'écart à la moyenne. Cette valeur permet de chiffrer l'augmentation ou la diminution de la variable (activité amylasique ou trypsique); ce sont ces variations qui traduisent plus simplement l'existence ou non d'un rythme. Pour simplifier la lecture des graphiques, nous utiliserons la moyenne des valeurs standardisées (écarts à la moyenne).

Les variations de la moyenne des écarts à la moyenne par tranche horaire, de l'activité spécifique de la trypsine (Fig. 8) et de l'amylase (Fig. 9) ont été tracées en fonction des heures du cycle diurne pour *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*.

Pour l'activité trypsique, un seul pic quotidien est observé vers 18 h. Toutes les autres valeurs sont plus faibles. L'activité spécifique de l'amylase présente deux maximums, l'un diurne dans la matinée vers 10 h., l'autre nocturne, à 18-22 h. Les rythmes des deux activités enzymatiques sont synchrones. Compte tenu de la régulation des activités enzymatiques par la nutrition, ils traduisent une alimentation périodique des deux espèces de Copépodes considérés.

On ne retiendra pas l'hypothèse d'une induction de ce rythme alimentaire par la migration nyctémérale, suivant laquelle les animaux traversant au cours de leur ascension vers la surface des couches de nourriture plus dense pourraient se nourrir plus activement. En effet, le rythme identique mis en évidence pour les animaux des deux espèces toujours prélevés à proximité du fond infirme cette hypothèse.

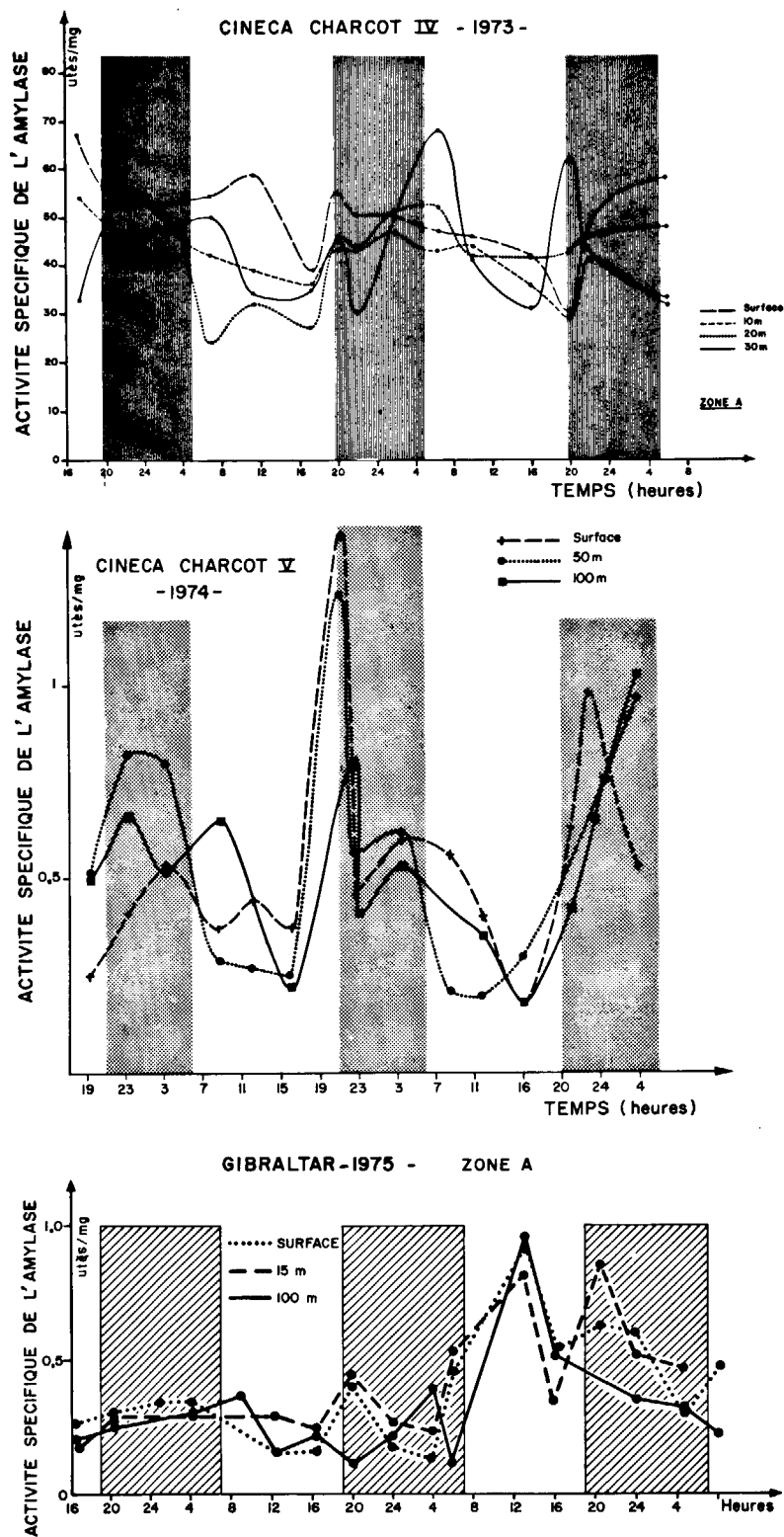
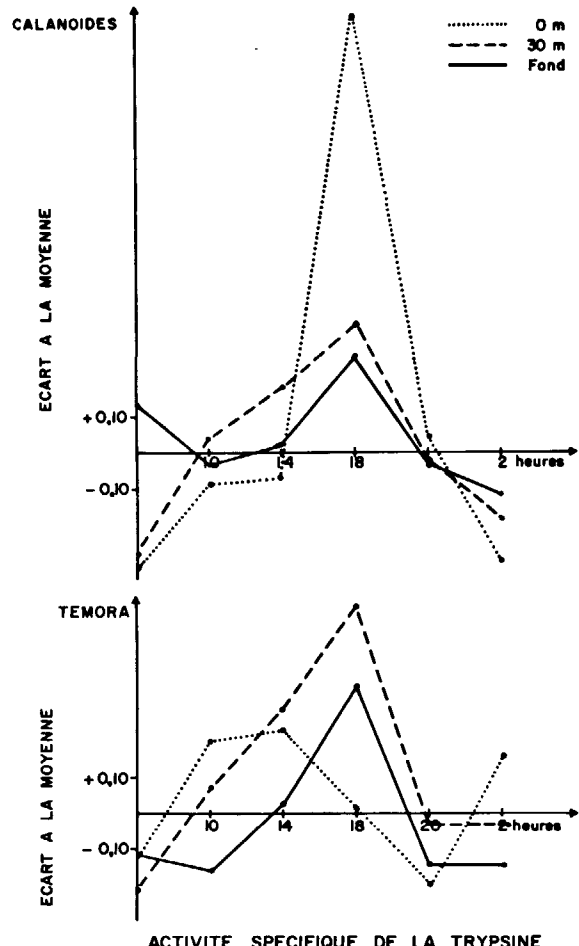
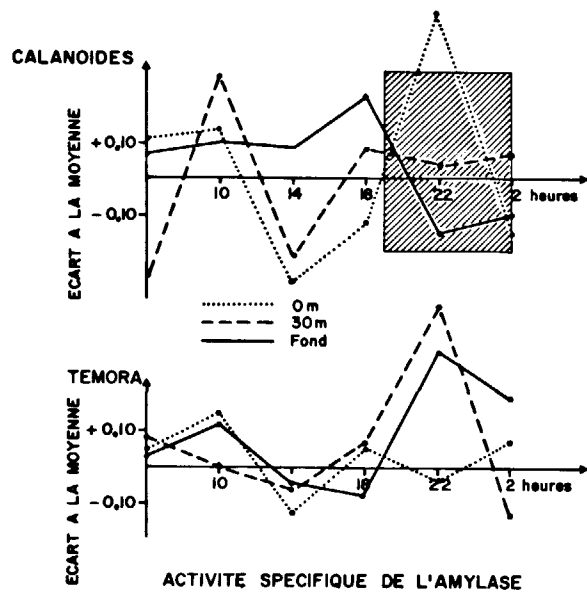


FIG. 7. Variations de l'activité spécifique de l'amylase mesurée sur des prélèvements totaux périodiques. Comparaisons des variations d'activité en trois points fixes géographique de prélèvements, réalisés au cours des campagnes Cineca IV, Cineca V et Gibraltar du N. O. Jean Charcot.



ACTIVITE SPECIFIQUE DE LA TRYPSINE

FIG. 8. Variations des moyennes horaires d'augmentation (écart à la moyenne) de l'activité spécifique de la trypsine en fonction du cycle horaire quotidien pour deux espèces de Copépodes: *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*. Ces mesures ont été réalisées durant la campagne Gibraltar.



ACTIVITE SPECIFIQUE DE L'AMYLASE

FIG. 9. Variations des moyennes horaires d'augmentation (écart à la moyenne) de l'activité spécifique de l'amylase en fonction du cycle horaire quotidien pour deux espèces de Copépodes: *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*. Ces mesures ont été réalisées lors de la campagne Gibraltar.

B. Analyse du rythme d'activité en fonction de quelques facteurs externes

Les variations d'activité spécifique de l'amylase (exprimée en moyenne par heures correspondantes, des écarts à la moyenne) sont comparées pour deux espèces *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera* en fonction de trois profondeurs de pêche, de deux zones géographiques de prélèvement et du cycle diurne (Fig. 10). Ces deux zones, l'une néritique, l'autre océanique (cf. Fig. 1), ont été choisies après prospection des conditions écologiques de manière à réunir un maximum de différences de ces conditions donc des facteurs externes. Les différences de niveau d'activité trophique entre ces deux zones pour différentes espèces confirmera le bien-fondé de ce choix.

Deux caractéristiques du rythme, la périodicité et l'amplitude de variation, sont prises en considération.

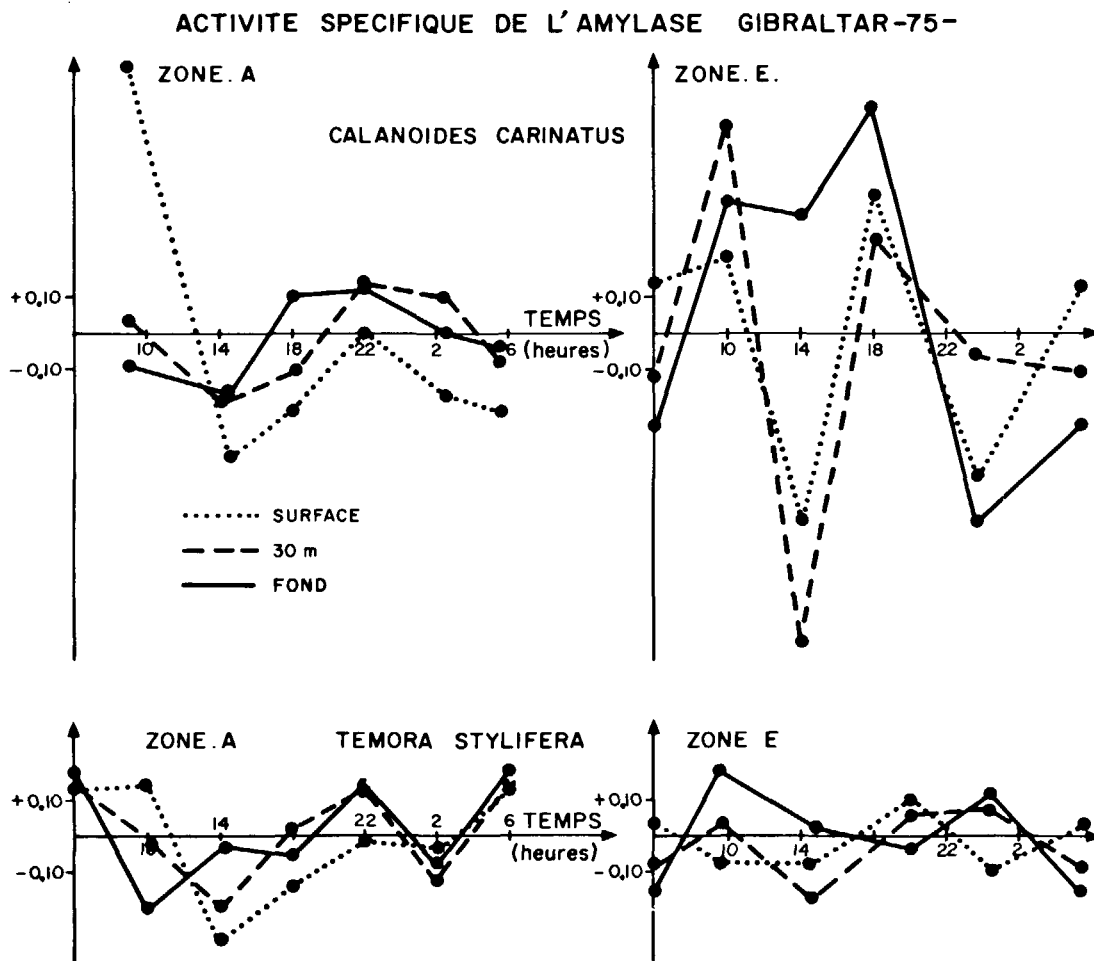


FIG. 10. Comparaison du rythme nyctéméral d'activité spécifique de l'amylase suivant différentes conditions externes, profondeur et stations de prélèvements, pour les Copépodes *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*. Les valeurs portées en ordonnée sont les moyennes pour les heures identiques des écarts à la moyenne des activités spécifiques enzymatiques.

Aucune différence de périodicité n'est introduite par les trois causes de variation analysées. Maximums et minimums apparaissent aux mêmes heures du début de la matinée et de la nuit décrites précédemment (Fig. 9). Les variations d'activité amylasique de *Rhincalanus nasutus* sont représentées de la même manière pour cinq zones de prélèvement réparties sur toute l'aire étudiée (Fig. 11). Cette comparaison conduit aux mêmes conclusions: la périodicité du rythme d'activité est la même pour toutes les causes de variations envisagées. Elle ne varie ni avec la profondeur, ni avec les conditions écologiques ni même avec l'espèce étudiée. La périodicité n'est donc pas influencée par les facteurs externes.

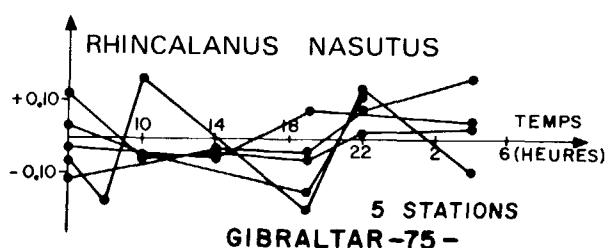


FIG. 11. Comparaison du rythme nycthéral d'activité spécifique de l'amylase du Copépode *Rhincalanus nasutus* aux cinq zones de prélèvements échantillonnées lors de la campagne Gibraltar. Les valeurs portées en ordonnées sont les moyennes pour groupe d'heure correspondante des écarts à la moyenne de l'activité spécifique de l'amylase.

Au contraire, l'amplitude des variations d'activité diffère avec ces conditions externes. Pour *Calanoides carinatus* par exemple (Fig. 18), l'amplitude augmente lorsque l'on passe de la zone A à la zone E de prélèvements. *Temora stylifera* montre une amplitude de variations moins importante que *Calanoides carinatus*. Cette variation d'amplitude du rythme est comparée aux niveaux moyens d'activité amylasique correspondants (Tableau III). Pour *Calanoides carinatus* la moyenne de l'activité amylasique décroît de 0.27 à 0.12 tandis que l'amplitude de variation croît de 0.40 à 1.20 lorsqu'on passe de la zone A à la zone E. De même si l'on compare *C. carinatus* et *T. stylifera* l'amplitude de variation décroît lorsqu'on passe de l'un à l'autre (0.40-1.20 à 0.25) tandis que la moyenne d'activité croît (0.27-0.12 à 0.46).

TABLEAU IV

Comparaison des variations d'amplitude du rythme avec le niveau moyen d'activité spécifique amylasique correspondant

	<i>Calanoides carinatus</i>		<i>Temora stylifera</i>	
	Zone A	Zone E	Zone A	Zone E
Amplitude de variation	0.40	1.20	0.25	0.23
Moyenne de l'activité spécifique	0.27	0.12	0.46	0.48

La variation d'amplitude du rythme trophique est de sens inverse à l'activité trophique. Cette activité trophique est régulée par les conditions de nutrition. Il apparaît donc que le comportement alimentaire rythmé est d'autant plus marqué que les conditions de nutrition sont moins favorables. Une telle conclusion a déjà été formulée par Wimpenny (1938). Cet auteur a mis en évidence des résultats similaires en inventoriant le contenu du tube digestif de *Calanus helgolandicus*. Il montre ainsi que le nombre de proies ingérées (diatomées) est significativement plus élevé de nuit que de jour. Cette différence s'atténue lorsque les conditions trophiques deviennent plus favorables.

Ce comportement rythmé qui limite la nutrition à la période nocturne permet un meilleur rendement de la production primaire (MacAllister, 1969). Son apparition lorsque le stock de nourriture disponible est faible, correspond à une autorégulation du système qui améliore son fonctionnement. Cette limitation disparaît lorsque la nourriture est abondante.

Le même rythme, synchrone de celui de l'amylase, a été mis en évidence pour la trypsine (Fig. 8). Une analyse similaire de l'influence des facteurs externes ne fait apparaître aucune différence remarquable avec les résultats obtenus pour l'amylase; cette étude n'est donc pas détaillée ici.

C. Discussion et conclusion

Un rythme d'activité enzymatique digestive a été mis en évidence. Nous avons montré dans la première partie de cette étude la relation quantitative liant ces activités à la nutrition. On peut déduire de ces résultats qu'il existe un rythme de nutrition.

La périodicité de ce rythme apparaît comme indépendante des variations de conditions externes, ce qui conduit à conclure à l'existence de facteurs internes de régulation. Par contre, les manifestations du rythme (son amplitude) sont régulées par les conditions externes trophiques.

Il est difficile, à partir de ces résultats, de discuter plus avant l'importance relative des facteurs externes et internes de régulation. Il est possible qu'une horloge physiologique régule les variations périodiques d'activité enzymatique digestive. Ce peut être le résultat d'une mémorisation induite par des facteurs externes. Toutefois, un apport périodique de nourriture indépendant des migrations nyctémérales et un éclairage identiques sur une zone océanique de 50 milles est peu crédible. Enfin, les individus conservés en élevage à l'obscurité pendant 40 à 60 heures présentent le même rythme. Il serait cependant nécessaire de les observer pendant des périodes beaucoup plus longues pour décider de la conservation ou de la disparition du comportement périodique.

Dans l'état actuel de nos mesures, ce rythme apparaît comme un phénomène endogène non autonome; c'est un rythme nyctéméral de nutrition.

Conclusion

L'étude de la signification biologique des variations d'activité enzymatique digestive nous a conduits à mettre en évidence des relations avec la nutrition. Des corrélations significatives sont établies entre l'activité spécifique de l'amylase et les taux

d'ingestion et d'assimilation. Cette corrélation traduit l'augmentation de l'activité spécifique de l'enzyme lorsque l'ingestion et l'assimilation augmentent. Une variation des rapports d'activité de l'amylase et de la trypsine apparaît lorsque la nature de la nourriture disponible change. Cette étude expérimentale est complétée par l'analyse statistique des mesures effectuées sur les organismes dès leur capture. L'utilisation des corrélations simples, multiples et partielles, puis une analyse factorielle, permettent de montrer que l'activité de l'amylase et de la trypsine est régulée par les conditions trophiques (taille des particules, quantité et composition biochimique de la nourriture). Par exemple pour *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera* l'abondance de particules de la taille 5-20 μm apparaît comme facteur explicatif des variations d'activité spécifique de l'amylase et de la trypsine.

Dans le cas de *C. carinatus* la relation avec la température suggère l'existence possible d'une autre régulation de type physiologique si cette influence est directe; dans le cas contraire, elle traduirait une tendance générale d'ordre écologique.

La standardisation des variations d'activité de ces enzymes comme mesure de la nutrition dans les conditions naturelles est approchée. Les équations de régression linéaire obtenues avec le taux d'ingestion et le taux d'assimilation, constituent une première calibration utilisable lorsque la nature du régime est constante et voisine de celle utilisée expérimentalement pour l'étalonnage. Dans les conditions naturelles, une expression quantitative satisfaisante de la nutrition devrait prendre en compte les activités de diverses enzymes digestives. Cependant, la standardisation d'un tel modèle reste délicate car il n'existe pas actuellement d'autre méthode comparable de mesure de la nutrition *in situ*. Dans ces conditions, il faut envisager une approche pas-à-pas alliant une quantification indirecte (*in vitro*) des lois de régulation des activités enzymatiques digestives, à une vérification dans les conditions de l'écosystème. Cependant, les relations établies avec les taux d'ingestion, d'assimilation et de nourriture disponible justifient l'utilisation des activités de l'amylase et de la trypsine comme indice de la nutrition. De ce point de vue, le comportement alimentaire des principales espèces du méso-zooplancton (Copépodes et Cladocère) est analysé. Ainsi pour *Calanoides carinatus* et *Temora stylifera*, le nombre de particules de taille 5-20 μm , qui est un des facteurs explicatifs des variations d'activité enzymatique digestive, peut être considéré comme le type de nourriture ingérée. Pour les autres espèces, nous n'avons pas pu mettre en évidence une influence directe d'une taille particulière de particules. Comme il est décrit pour les Calanoidés, de nombreuses variations du type de particules filtrées et que des mécanismes de goût pour choisir la nourriture paraissent peu probables chez ce type d'animaux, il nous faut conclure à un comportement omnivore. L'équipement enzymatique digestif et ses possibilités d'adaptation correspondent à un tel régime alimentaire. Enfin, il n'y a pas de corrélation significative entre les activités de l'amylase et de la trypsine. Les variations de rapport entre ces deux activités enzymatiques traduisent donc le type de nourriture qui est assimilé. La comparaison des résultats obtenus permet de mettre en évidence une tendance herbivore qui se manifeste par une intense digestion des polysaccharides pour *Temora stylifera*, *Calanoides carinatus*, *Pleuromamma gracilis* et *Acartia clausi*. *Oncaea sp.* et *Podon in-*

termedius, au contraire, qui ont de fortes activités trypsiques (assimilation des protéines) manifestent une tendance carnivore.

Enfin, des variations périodiques d'activité enzymatique digestive ont été recherchées. A ce premier stade de l'étude nous n'avons pas fait appel à des méthodes statistiques sophistiquées de traitement qui aurait nécessité une stratégie d'échantillonnage beaucoup plus lourde. Nous nous sommes contentés de rechercher une augmentation périodique des activités enzymatiques digestives en utilisant une standardisation des variables pour les rendre comparables. Cette méthode permet de mettre en évidence un rythme des activités amylasiques et trypsiques. Les résultats de la première partie de l'étude qui ont montré la valeur de ces activités enzymatiques en tant qu'indice de nutrition permettent d'identifier le rythme d'activité à un rythme alimentaire.

Les caractéristiques du rythme sont ensuite comparées suivant les variations des conditions externes traduites par une répétition des mesures pour diverses stations géographiques, profondeurs, conditions écologiques, etc. La périodicité du rythme est conservée dans tous les cas de mesure tandis que son amplitude varie. Il apparaît que le comportement rythmé est d'autant plus marqué que les conditions trophiques sont plus défavorables. Les trois espèces analysées *Calanoides carinatus*, *Temora stylifera* et *Rhincalanus nasutus* présentent le même comportement. Ceci conduit à admettre l'existence de facteurs de régulation d'origine interne et externe. Dans l'état actuel des mesures, il n'est pas possible de discuter plus avant de l'importance des deux types de régulation. Nous concluons ainsi à un rythme nycthéméral de nutrition.

Bibliographie

- BARRINGTON, E. J. W. 1962. Digestive enzymes. *Adv. comp. Physiol. Biochem.* 1:1-65.
- BOUCHER, J., et J. F. SAMAIN. 1974. L'activité amylasique, indice de la nutrition du zooplancton; mise en évidence d'un rythme quotidien en zone d'upwelling. *Téthys* 6 (1,2): 179-188.
- BOUCHER, J., et J. F. SAMAIN. 1975. Etude de la nutrition du zooplancton en zone d'upwelling par la mesure des activités enzymatiques digestives. p. 329-341. *In: Proc. mar. Biol. Symp.*, Oban, Scotland, Oct. 2-8, 1974. Barnes, H. (Ed.), Aberdeen Univ. Press, Aberdeen. 760 p.
- BOX, G. E. P., and G. M. JENKINS. 1972. Time series analysis forecasting and control. Holden Day, San Francisco. 553 p.
- CHARDY, P., M. GLEMAREC, and A. LAUREC. (in press). Applications of inertia methods to benthic marine ecology practical implications of the basic options. *Estuar. coast. mar. Sci.*
- CONOVER, R. J., and V. FRANCIS. 1973. The use of radioactive isotopes to measure the transfer of materials in aquatic food chains. *Mar. Biol.* 18:272-283.
- DRAPER, N. R. and J. SMITH. 1966. Applied regression analysis. Wiley Ser. Probab. math. stat. J. Wiley and Son, New York, London, Sydney. 40 p.
- GAUDY, R., 1974. Feeding four species of pelagic copepods under experimental conditions. *Mar. Biol.* 25:125-141.
- GUILLARD, R. R. L., and J. H. RYTHER. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve), *Gran. Can. J. Microbiol.* 8:229-239.
- LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FAIR, and R. J. RANDALL. 1951. Proteins measurements with the Folin phenol reagent. *J. biol. chem.* 193:265-275.

- MAC ALLISTER, C. D. 1969. Aspects of estimating zooplankton production from phytoplankton production. *J. Fish. Res. Bd Can.* 26:199-220.
- MENZEL, D. W., and R. F. VACCARO. 1964. The measurement of dissolved organic and particulate carbon in seawater. *Limnol. Oceanogr.* 9:138-142.
- POULETS, S. 1974. Seasonal grazing of *Pseudocalanus minutus* on particles. *Mar. Biol.* 25:109-123.
- SAMAIN, J. F., et J. BOUCHER. 1974. Dosage automatique et simultané de l'amylase et des protéines du zooplancton. *Annls Inst. océanogr.*, Paris 50 (2):199-205.
- SAMAIN, J. F., J. BOUCHER et D. BUESTEL. 1976. Signification biologique des teneurs protéïques et des activités de l'amylase et des protéases chez *Artemia salina* L. Aspects d'application à l'étude de la nutrition. p. 391-417. *In: Proc. 10th Eur. Symp. mar. Biol.*, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975. Persoone, G., and E. Jaspers (Eds). Universa Press, Wetteren. Vol. 1. 622 p.
- STEELE, J. H., 1974. The structure of marine ecosystems. Harvard Univ. Press, Cambridge. 128 p.
- VAN WORMHOUDT, A. 1974. Etude des enzymes de l'hepatopancreas chez *Penaeus kerathurus* et *Penaeus serrata*, Crustacés Décapodes, dans les conditions physiologiques normales et en élevage. Thèse 3^e cycle, Océanogr. biol., Univ. Aix-Marseille II, France. 197 p.
- WIMPENNY, R. S. 1938. Diurnal variations in the feeding and breeding of zooplankton related to the numerical balance of the zoophytoplankton community. *J. Cons. perm. int. Explor. Mer* 13:323-337.