

Abyssal  
Actinie  
Amylase  
Chymotrypsine  
Nutrition

Deep sea  
Sea anemone  
Amylase  
Chymotrypsin  
Nutrition

# Fluctuations d'activités enzymatiques digestives chez les actinies abyssales : indices d'une nutrition particulière

Michel Van-Praët

Laboratoire de Biologie des Invertébrés marins, Muséum National d'Histoire Naturelle, 57, rue Cuvier, 75005 Paris, France.

## RÉSUMÉ

Les variations des taux d'amylase et du rapport amylase/chymotrypsine (A/C) dans les extraits d'actinies sont considérées comme étant en corrélation avec la quantité de phytoplancton et de débris végétaux dans leur régime alimentaire.

Chez les actinies étudiées, provenant de différentes profondeurs, l'activité chymotrypsique ne varie pas de manière significative ; à l'inverse, l'activité amyliasique et la valeur du rapport A/C varient en fonction de la profondeur. La valeur de A/C est élevée dans les extraits des actinies chalutées à 2 000 m dans le Golfe de Gascogne en juin ( $84 \pm 52$ ), et plus basses en septembre ( $36 \pm 16$ ). Les activités mesurées dans les extraits d'actinies chalutées entre 4 500 et 5 200 m en juin (au large du Portugal) et en septembre (dans la Plaine de Demerara), sont particulièrement faibles ( $21 \pm 3$  et  $15 \pm 10$ ). L'hypothèse de variations saisonnières du régime alimentaire des actinies abyssales est envisagée.

*Oceanol. Acta*, 1983. Actes 17<sup>e</sup> Symposium Européen de Biologie Marine, Brest, 27 septembre-1<sup>er</sup> octobre 1982, 197-200.

## ABSTRACT

Fluctuations of enzymatic digestive activities in deep-sea actinians : signs of a particulate nutrition

The variations of amylase and of the ratio amylase/chymotrypsin (A/C) in the extracts of sea anemones are considered as correlated with the amount of microalgae and vegetal detritus in their diet. The results given by the lots of sea anemones from different depths, did not fluctuate significantly for chymotrypsic activities, but the level of the amylolytic activity and the value of the ratio A/C varied as depth. The value of A/C was high in the extracts of sea anemones trawled from 2 000 m in the Bay of Biscay in June ( $84 \pm 52$ ) and lower in September ( $36 \pm 16$ ). The values measured in the extracts of sea anemones trawled from 5 200 to 4 500 m (off Portugal) in June, or from 4 900 m (in Demerara Plain) in September were remarkably low ( $21 \pm 3$  and  $15 \pm 10$ ). The hypothesis of seasonal variations in the diet of deep-sea actinians was discussed.

*Oceanol. Acta*, 1983. Proceedings 17th European Marine Biology Symposium, Brest, France, 27 September-1 October, 1982, 197-200.

## INTRODUCTION

La nutrition expérimentale d'*Actinia equina* L. avec des cyanophycées (Van-Praët, 1980) et l'observation en microscopie électronique de bactéries dans les cellules phagocytaires d'actinies fixées sur l'estran (Van-Praët, 1981), permettent d'envisager la participation de particules végétales (bactéries, phytoplancton, débris de

macroalgues ou terrigènes) dans le régime alimentaire de ces Cnidaires sédentaires jusqu'alors considérés comme carnivore. L'étude, chez cette actinie intertidale, de fluctuations saisonnières des activités amyliasiques, protéasiques et de la valeur de leur rapport, fournit des indices complémentaires de la participation d'éléments riches en amidon dans son alimentation (Van-Praët, 1982).

La biologie des actinies abyssales demeure méconnue, néanmoins des observations *in situ* (Aldred *et al.*, 1979) révèlent que les individus adoptent des postures favorisant la collecte des particules. Sur plusieurs espèces d'actinies abyssales, nous avons cherché à définir si l'utilisation des mêmes paramètres enzymologiques que chez *Actinia equina* procure des informations sur leur régime alimentaire, et plus globalement sur l'importance pour la nutrition de la faune abyssale, des particules végétales provenant de la surface.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les actinies proviennent de 4 missions effectuées dans l'Atlantique. Les *Actinauge* spp. ont été chalutées lors de la campagne Demeraby, dans la plaine de Demerara, à la base du cône d'alluvions de l'Amazone en septembre 1980 (4 900 m, 10°23N, 46°46W). Les autres récoltes correspondent aux sites 2 à 5 de la figure 1.

Les actinies sont disséquées dès leur remontée à bord, pour recueillir les éventuelles proies, puis elles sont congelées. Les activités amylasiques et chymotrypsiques sont dosées dans les surnageants des broyats selon les méthodes décrites chez *Actinia equina* (Van-Praët, 1982).

Dans les conditions de dosage de l'activité amylasique (substrat : amidon soluble Merck, dans un tampon phosphate 0,1 M, NaCl 0,1 M, de pH 6,8 et à 25 °C) le Km est de  $1,1 \pm 0,8$  mg/ml avec les extraits de *Paracalliactis* et de  $0,9 \pm 0,3$  mg/ml avec ceux d'*Amphianthus*. Pour l'activité chymotrypsique (substrat de synthèse ATPNA Merck, solubilisé dans un tampon TRIS 0,01 M, CaCl<sub>2</sub> 0,04 M, de pH 8 et à 50 °C) le Km est de  $3,5 \pm 2,2 \cdot 10^{-4}$  M, avec l'extrait de *Paracalliactis*.

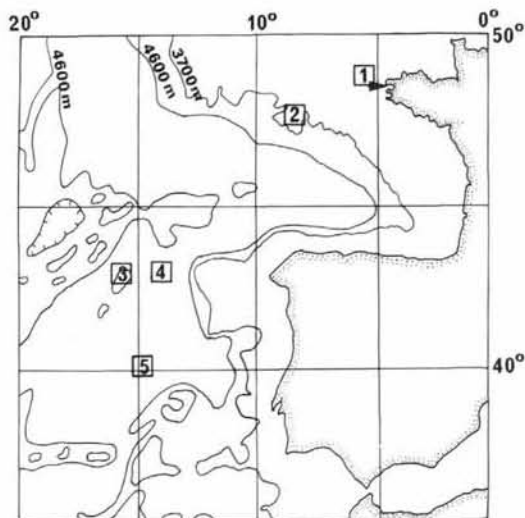


Figure 1

Sites de prélèvements dans l'Atlantique nord-est. 1 : Goulet de Brest prélèvement d'*Actinia equina*; 2 : terrasse de Meriadzeck, 2 000 m, prélèvement de *Paracalliactis stephensoni* et *Phelliactis robusta*; 3 : 4 500 m; 4 et 5 : 5 200 m, prélèvements d'*Amphianthus* sp.

Areas of collect in the North-East Atlantic.

1 : Brest Channel collect of *Actinia equina*; 2 : Meriadzeck Terrace, 2 000 m, collect of *Paracalliactis stephensoni* and *Phelliactis robusta*; 3 : 4 500 m; 4 and 5 : 5 200 m, collect of *Amphianthus* sp.

Les résultats sont comparés entre eux, et aux valeurs saisonnières connues chez *Actinia equina*, selon une analyse de variance.

## RÉSULTATS

Les activités amylasiques mesurées chez les actinies collectées par 2 000 m, dans le Golfe de Gascogne sont significativement différentes de celles des actinies provenant des divers prélèvements entre 4 500 et 5 200 m ( $p < 0,001$ ). Pour les actinies provenant de 2 000 m, les valeurs de juin apparaissent différentes de celles de septembre ( $p < 0,05$ ; fig. 2).

De même que pour l'activité amylasique (tableau), la valeur du rapport A/C est significativement différente entre les lots d'actinies prélevées par 2 000 m et ceux provenant de 4 500 à 5 200 m ( $p < 0,001$  entre les valeurs des actinies chalutées en juin sur la Terrasse de Meriadzeck et celles des actinies du large du Portugal;  $p < 0,05$  entre les lots d'actinies prélevées en septembre à 2 000 m et 4 900 m).

## DISCUSSION

Les possibilités d'utilisation de la valeur du rapport amylase/protéase comme indice écophysologique de la participation de particules d'origine végétale dans

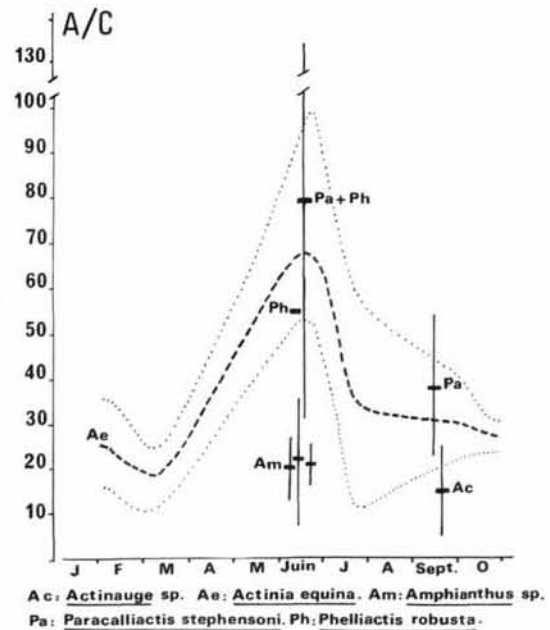


Figure 2

Variation saisonnière et bathymétrique de la valeur du rapport amylase/chymotrypsine (A/C).

Pour *Actinia equina*, la fluctuation des valeurs saisonnières moyennes est figurée par les tirets, les pointillés correspondent aux écarts-types. Pour les espèces abyssales, les traits verticaux correspondent aux écarts-types.

Seasonal and bathymetric variation of the ratio value amylase/chymotrypsin (A/C).

For *Actinia equina*, the fluctuations of the mean seasonal values is represented by dash line, the dotted lines represent standard deviation. For the deep-sea species, the vertical lines represent the standard deviations.

Tableau

Taux d'amylase et de chymotrypsine dans les extraits d'actinies de différentes profondeurs.

*Level of amylase and chymotrypsin in the extracts of sea anemones from different depths.*

	Activité amylasique	Activité chymotrypsique
<i>Actinia equina</i> (*) (Goulet de Brest, juin)	70 ± 24; 51 ± 31	1,02 ± 0,13; 0,84 ± 0,27
<i>Phelliactis robusta</i> (2 000 m, juin)	59	1,10
<i>Paracalliactis stephensoni</i> (2 000 m, juin (2 000 m, septembre)	53 ± 13 32 ± 8	0,72 ± 0,26 0,90 ± 0,22
<i>Amphianthus</i> sp. (4 500 m, juin, site 3) (5 200 m, juin, site 4) (5 200 m, juin, site 5)	19 ± 3 12 ± 1 19 ± 4	1,20 ± 0,68 0,68 ± 0,17 0,88 ± 0,14
<i>Actinauge</i> spp. (4 900 m, septembre, Plaine de Demerara)	15 ± 5	0,80 ± 0,13

(\*) d'après Van-Praët (1982).

l'alimentation des invertébrés marins ont été discutées pour le zooplancton (Boucher *et al.*, 1976) et pour les actinies littorales (Van-Praët, 1982). Au-delà des limites de cet indice, l'utilisation des méthodes enzymologiques chez des espèces abyssales pose le problème de l'influence de la pression sur les enzymes étudiées. Des phénomènes d'inhibition ou de promotion liés à la pression, sont connus pour certaines enzymes de poissons profonds (Hochachka *et al.*, 1972; Siebenaller, Somero, 1978). Peu de données existent sur l'influence de la pression sur les enzymes digestives. Zobell et Hittle (1969), dans leur étude de l'amylase des bactéries marines, ont décelé une légère augmentation de la vitesse d'hydrolyse de l'amidon, lors de l'élévation expérimentale de la pression. Cette augmentation de la vitesse est de 2 % pour une pression équivalente à 2 000 m, et de 5 % pour celle équivalente à 5 000 m, ceci à 25 °C, comme dans nos conditions de dosage. Les valeurs que nous avons calculées à pression atmosphérique seraient donc très légèrement sous-estimées, mais dans des proportions négligeables par rapport aux écarts considérés comme significatifs. Chrissyomallis *et al.* (1981) ont mis en évidence des modifications de conformation des molécules de chymotrypsinogène et leur agrégation, en fonction de la pression. Ces observations réalisées sur des molécules purifiées, en solution, fournissent peu d'informations sur l'influence réelle de la pression sur la chymotrypsine des espèces abyssales dans les surnageants non purifiés et dans les conditions naturelles. Dans nos conditions de dosage, les Km calculés ne sont pas significativement différents de ceux connus chez l'actinie intertidale *Actinia equina* (Van-Praët, 1982). Cette homogénéité des valeurs des Km, pour l'activité amylasique, comme pour l'activité chymotrypsique, permet de considérer que les résultats des dosages enzymatiques constituent des indices éco-physiologiques comparables entre actinies littorales et abyssales. Cette comparaison peut être justifiée également au niveau cytologique par la similitude des types cellulaires assurant les phénomènes de digestion (cel-

lules à zymogène, cellules phagocytaires) et par le bon état de préservation des tissus des espèces abyssales (Van-Praët, 1981).

Les résultats des dosages enzymatiques (tableau et fig. 2) permettent de déterminer deux groupes d'espèces en fonction de la bathymétrie des sites de chalutage. Il s'agit d'une part des actinies prélevées sur la terrasse de Meriadzeck par 2 000 m (site 2 de la figure 1), et d'autre part de l'ensemble des espèces récoltées entre 4 500 et 5 200 m, quel que soit le site ou la saison.

Chez les actinies les plus profondes (*Amphianthus*, *Actinauge*) prélevées en juin, ou en septembre, les activités amylasiques (tableau) et les valeurs du rapport A/C (fig. 2) sont très faibles. Elles sont significativement différentes de celles mesurées chez les espèces de 2 000 m. Par contre, les valeurs mesurées chez les *Paracalliactis* (prélevées à 2 000 m) ne sont pas significativement différentes de celles connues chez les *Actinia* (récoltées en zone intertidale), à la même saison (fig. 2). Ces résultats peuvent être interprétés comme une confirmation de la participation d'éléments particuliers riches en amidon (phytoplancton, débris de macroalgues et apports terrigènes) dans l'alimentation de certaines actinies profondes (*Phelliactis robusta*, *Paracalliactis stephensoni*) du Golfe de Gascogne, par 2 000 m de fond. Les valeurs de l'activité amylasique, significativement différentes en juin et en septembre, permettent de formuler l'hypothèse de fluctuations trophiques saisonnières, affectant ces actinies vivant par 2 000 m de fond.

Deux hypothèses peuvent expliquer les très faibles teneurs en amylase détectées chez les actinies plus profondes étudiées : d'une part une altération ou un comportement particulier de leurs amylases, d'autre part une extrême pauvreté en matière particulaire riche en amidon à ces profondeurs.

L'étude de Zobell et Hittle (1969) sur l'influence de la pression sur l'amylase des bactéries marines, et la similitude des valeurs des Km entre espèces profondes et littorales, permettent d'éliminer la première hypothèse. La seconde hypothèse semble, par contre, en accord avec ce qui est connu sur la production d'amidon par le phytoplancton et sur la chute de celui-ci vers les abysses.

Bursa (1968) a mis en relation les teneurs élevées en amidon dans plusieurs océans avec les « blooms » de dinophycées, ceux de cyanophycées, cryptophycées et de chlorophycées intervenant pour une moindre part. Or, Malone *et al.* (1973) ont montré que les éléments phytoplanctoniques atteignant les grands fonds sont essentiellement les diatomées. Il est connu que le sucre de réserve de celles-ci n'est pas l'amidon. Il s'agit de chrysolaminarines : polysaccharides en  $\beta$ 1-3, et non en  $\alpha$ 1-4 (comme l'amidon), qui ne sont pas susceptibles d'induire de synthèses d'amylase. La possibilité d'utilisation d'autres enzymes que l'amylase, comme indices éco-physiologiques doit donc être envisagée.

L'observation en microscopie électronique de particules identifiables, les unes à des bactéries, et les autres probablement à des fragments de diatomées, dans les cellules phagocytaires de la cavité entérique d'actinies abyssales (Van-Praët, à paraître), nous font considérer

que la matière particulaire d'origine végétale intervient dans la nutrition des actinies profondes, ne présentant que de très faibles activités amylasiques. L'étude des laminarinases, connues chez les actinies depuis les travaux de Sova *et al.* (1970) pourraient fournir des indices de la participation de diatomées dans l'alimentation de ces cnidaires. Les taux de  $\beta$ -glucuronidase varieraient chez l'actinie *Metridium*, en fonction de la quantité de bactéries dans leur régime alimentaire (Schick, comm. pers.). Cette enzyme existe dans les mésentères des actinies abyssales (Van-Praët, Geistdoerfer, 1980), et peut donc être également considérée lors de l'étude de la nutrition d'espèces abyssales.

## CONCLUSION

La collecte et l'endocytose des particules d'origine végétale (bactéries, phytoplancton, débris de macroalgues et terrigènes) sont des propriétés des actinies tant littorales qu'abyssales. L'endocytose est décelable par l'observation directe de certains de ces éléments

en microscopie électronique dans leurs cellules phagocytaires (Van-Praët, 1980; 1981). L'étude des activités amylasiques fournit un indice complémentaire de la participation saisonnière d'éléments riches en amidon dans l'alimentation de certaines actinies (Van-Praët, 1982). La sensibilité de cet indice permet de déceler des fluctuations saisonnières trophiques chez les actinies prélevées jusqu'à 2 000 m dans le Golfe de Gascogne. D'autres activités enzymatiques devraient être étudiées pour établir des indices écophysologiques complémentaires, en particulier pour les espèces plus profondes. Les difficultés d'expérimentation *in situ*, sur la macrofaune sédentaire abyssale, font des méthodes biochimiques, réalisables sur les individus ramenés en surface, l'une des voies privilégiées d'étude de leur biologie.

## Remerciements

La collecte des actinies a été réalisée lors des campagnes Biogas IX et XI, Demeraby et Abyplaine dans le cadre de la RCP 462 et grâce aux moyens du Centre National pour l'Exploitation des Océans (CNEXO).

## RÉFÉRENCES

- Aldred R. G., Riemann-Zürneck K., Thiel H., Rice A. L., 1979. Ecological observations on the deep-sea anemone *Actynoscaphia aurelia*, *Oceanol. Acta*, **2**, 4, 389-395.
- Boucher J., Laurec A., Samain J.-F., Smith S. L., 1976. Étude de la nutrition, du régime et du rythme alimentaire du zooplancton dans des conditions naturelles par mesure des activités enzymatiques digestives, *Proc. 10th European Marine Biology Symp., Ostend, Belgium*, 123-138.
- Bursa A. S., 1968. Starch in the Oceans, *J. Fish. Res. Board Can.*, **25**, 1269-1284.
- Chryssomallis G. S., Torgerson P. M., Drickamer H. G., Weber G., 1981. Effect of hydrostatic pressure on lysozyme and chymotrypsinogen detected by fluorescence polarization, *Biochemistry*, **20**, 3955-3959.
- Hochachka P. W., Moon T. W., Mustafa T., 1972. The adaptation of enzymes to pressure in abyssal and midwater fishes, in: *The effects of pressure on organisms*, University Press, Cambridge, 175-195.
- Malone T. C., Garside C., Anderson R., Roels O. A., 1973. The possible occurrence of photosynthetic microorganisms in deep-sea sediments of the north Atlantic, *J. Phycol.*, **9**, 482-488.
- Siebenaller J., Somero G. N., 1978. Pressure adaptative differences in lactate dehydrogenases of congeneric fishes living at different depths, *Science*, **201**, 255-257.
- Sova V. V., Elyakova L. A., Vaskovsky V. E., 1970. The distribution of laminarinases in marine invertebrates, *Comp. Biochem. Physiol.*, **32**, 459-464.
- Van-Praët M., 1980. Absorption des substances dissoutes dans le milieu, des particules et des produits de la digestion extracellulaire chez *Actinia equina*, *Reprod. Nutr. Dev.*, **20 B**, 1393-1399.
- Van-Praët M., 1981. Comparaison des taux d'activité amylasique, trypsique et chymotrypsique, ainsi que des types cellulaires intervenant dans la digestion chez les actinies littorales et abyssales, *Océanis*, **7**, 687-703.
- Van-Praët M., 1982. Amylase, trypsin- and chymotrypsin-like proteases from *Actinia equina* L.; their role in the nutrition of this sea anemone, *Comp. Biochem. Physiol.*, **72 A**, 523-528.
- Van-Praët M., Geistdoerfer P., 1980. Étude des zymogrammes des tissus digestifs de Poissons et Invertébrés abyssaux, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **290**, 1083-1086.
- Zobell C. E., Hittle L. L., 1969. Deep-sea pressure effects on starch hydrolysis by marine Bacteria, *J. Oceanol. Soc. Jpn*, **25**, 36-47.