

10th European Symposium on Marine Biology, Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975. Vol. 1:391-417.

*Signification biologique des teneurs protéiques  
et des activités de l'amylase  
et des protéases chez Artemia salina L.  
aspects d'application à l'étude  
de la nutrition \**

*J. F. Samain, J. Boucher, et D. Buestel*

*et la collaboration technique de M. M. Borne et J. R. Le Coz*

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

**Abstract**

*Biological significance of protein content and of amylase  
and protease activities in Artemia salina L.  
application aspects to nutritive studies*

—The relations between the activity of the digestive enzymes amylase and proteases were studied on *Artemia salina* L. For this purpose, a method for measuring the ingestion was developed compatible with the speed of response of the digestive enzymes. It is demonstrated that the proteic density variations in *Artemia* of the same size are in relation to the food content of their digestive tract. Therefore the measurement of the size and weight of proteins (proteic density) allows the evaluation of the ingestion.

With the aid of this method, a daily ingestion rhythm, with bimodal character, could be demonstrated. The influence on the ingestion, of the concentration of food available (*Tetraselmis suecica* Butcher) was studied in function of the size of the *Artemia*. During the ingestion cycle, the animals utilize food of different origins, with an intense nutritive activity for small specimens. In the range of concentrations studied, the quantity of food ingested is proportional to the quantity of food available. —

\* Contribution no. 415 du Département Scientifique du Centre Océanologique de Bretagne.

The analysis of the digestive enzymes, amylase and proteases of *Artemia*, as a function of the quantity of phytoplankton available, shows the regulation of the synthesis of these enzymes by the nutritional conditions of the environment. The amylase synthesis is activated in relation to the increase in concentration of phytoplankton available. Under the same conditions, on the contrary, the synthesis of proteases levels is suppressed. Maximum and minimum synthesis levels were defined. The amylase/proteases ratio allows to show the adaptation of *Artemia* to the feeding regime conditions. The comparison of this ratio to the measure of protein ingestion permits to define an optimum assimilation threshold.

During the daily rhythm of ingestion, the quantity of ingested phytoplankton is the second regulating factor of amylase synthesis. From this, the specific amylase activity of an *Artemia* population can theoretically be estimated from the number of specimens in the nutritive phase or in the resting phase and their respective specific activities.

During this rhythm, the amylase is activated in the evening in relation to the grazing of the phytoplankton. Particles of another chemical nature activate the amylase and the proteases during a secondary diurnal nutrition. In the medium maintained without phytoplankton, proteases are mainly activated, in this case the particles would correspond either to bacteria or to debris of ecdysis. In media containing phytoplankton, faecal pellets could adjoin these. The daily bimodal rhythm can also be observed in the medium without food. This allows to assume, that the activating mechanism is independent of the food supply.

The amylase/protease ratio in *Artemia* of three different size classes reveals a higher regime diversification for the smaller *Artemia*. This diversification would be a way to fulfil the energetic needs of the brine shrimp during their exponential growth phase.

The interference of the ingested proteins with the determination of specific activity of the digestive enzymes is discussed. It does not affect the primary regulation level, but it can invert the rhythm aspects. Such an interference has not been observed in copepods for which the nutritional conditions in the natural environment never reach the concentrations of phytoplankton utilized in culturing.

## Résumé

— Les relations entre l'activité des enzymes digestives amylase et protéases, et la nutrition sont étudiées chez *Artemia salina* L. A cette fin, une méthode de mesure de l'ingestion, compatible avec la vitesse de réponse des enzymes digestives, est développée. Il est démontré que les variations de teneur protéique des *Artemia* de même taille (densité protéique) sont en relation avec le contenu en nourriture de leur tractus digestif. De ce fait, leur mesure permet d'évaluer l'ingestion.

Par cette méthode, un rythme d'ingestion journalier, à caractère bimodal, est mis en évidence. L'influence de la concentration en nourriture disponible (*Tetraselmis suecica* Butcher) sur l'ingestion est étudiée en fonction de la taille des *Artemia*. Au cours du cycle d'ingestion, les animaux utilisent des nourritures de différentes origines, avec une activité nutritive intense pour les individus de petite taille. Dans la gamme de concentration étudiée, la nourriture ingérée est proportionnelle à la nourriture disponible. —

L'analyse des enzymes digestives amylase et protéases des *Artemia* en fonction de la quantité de phytoplankton disponible met en évidence la régulation de la synthèse de ces enzymes par les conditions nutritives du milieu. La synthèse de l'amylase est activée en relation avec l'accroissement de la concentration en phytoplankton disponible. Au contraire dans les mêmes conditions, la synthèse des protéases est réprimée. Des niveaux maximums et minimums de synthèse

sont définis. Le rapport amylase/protéases permet de mettre en évidence l'adaptation des *Artemia* aux conditions de régime alimentaire. La comparaison de ce rapport avec la mesure de l'ingestion protéique permet de définir un seuil d'assimilation optimum.

Au cours du rythme d'ingestion journalier, la quantité de phytoplancton ingéré, est le second facteur régulant la synthèse de l'amylase. De ce fait, l'activité de l'amylase d'une population d'*Artemia*, peut être théoriquement estimée par le nombre d'individus en phase de nutrition ou en phase de repos et leurs activités spécifiques respectives.

Au cours de ce rythme, l'amylase est activée le soir en relation avec le "grazing" du phytoplancton. Des particules d'une autre composition chimique activent l'amylase et les protéases au cours d'une nutrition secondaire diurne. Dans le milieu maintenu sans phytoplancton, les protéases sont principalement activées ; les particules dans ce cas correspondraient soit à des bactéries soit à des débris de mues. Dans les milieux pourvus en phytoplancton, les pelotes fécales pourraient s'y adjoindre. Le rythme journalier bimodal est observable aussi dans le milieu dépourvu de phytoplancton. Ceci permet de supposer que le mécanisme activateur est indépendant de l'apport de nourriture.

La mesure du rapport amylase/protéase chez des *Artemia* de trois classes de taille (4, 5, et 6 mm) met en évidence une diversification plus intense du régime des petites *Artemia*. Cette diversification serait un moyen de pallier leurs besoins énergétiques en phase de croissance exponentielle.

L'interférence des protéines ingérées sur la détermination de l'activité spécifique des enzymes digestives est discutée. Elle n'affecte pas le niveau primaire de régulation, mais elle peut inverser les aspects du rythme. Une telle interférence n'est pas apparue chez les Copépodes pour lesquels les conditions nutritives du milieu naturel n'atteignent jamais les teneurs de phytoplancton utilisées en élevage.

## **Introduction**

Les méthodes de mesure du taux de filtration ou du taux de carbone assimilé, utilisées pour quantifier la nutrition du zooplancton, rendent imperceptibles de fines variations du comportement alimentaire ; pourtant ces variations ont un effet capital sur le fonctionnement d'un écosystème (Steele, 1974). La nécessité de conserver quelques heures au moins, les organismes testés en milieu confiné, introduit une seconde cause d'erreur.

A ces méthodes, on peut substituer l'analyse des principes de régulation du métabolisme intermédiaire en relation avec l'activité physiologique des animaux, pour obtenir des estimations instantanées de cette activité. Nous avons choisi les enzymes digestives et leurs régulations pour mesurer la nutrition. Ce choix est justifié par la mise en évidence de la régulation de la synthèse des enzymes digestives par le régime alimentaire chez les mammifères (Jablonski, 1895 ; Grossman *et al.*, 1942 ; Reboud *et al.*, 1961, 1963 ; Marchis-Mouren *et al.*, 1963 ; Twombly Snook et Meyer, 1964 ; Lebas *et al.*, 1971). Les travaux que nous avons menés sur le zooplancton, nous ont permis de mettre en évidence des relations quantitatives entre ces activités enzymatiques et les résultats des méthodes usuelles de mesure de la nutrition (Boucher et Samain, sous presse).

La présente étude expérimentale a pour but de déterminer les mécanismes de régulation de la synthèse de l'amylase et des protéases pour définir la signification

physiologique de leur mesure. A cette fin, nous avons déterminé une méthode de mesure de l'ingestion chez *Artemia salina* L., compatible avec la vitesse de réponse des indices enzymatiques. Elle permet de mettre en évidence les relations entre l'activité de l'amylase, des protéases et la nutrition. Cette étude sera ensuite appliquée à différents aspects de la nutrition d'*Artemia salina*.

### **Matériel et méthodes**

Les *Artemia* sont élevées en laboratoire à la température de 20 °C dans de l'eau de mer filtrée à 10 µm. Les bacs d'élevage d'une contenance de 20 l pour 100,000 *Artemia* sont exposés à la lumière naturelle. L'oxygénation du milieu est assurée par un bullage d'air comprimé. Les œufs d'*Artemia* sont fournis par Metaframe, San Francisco Bay Brand Division, Newark, California. La nourriture utilisée est l'algue unicellulaire *Tetraselmis suecica* Butcher, cultivée par l'équipe d'aquaculture du COB (Flassch et Normant, 1974).

La mesure des protéines selon la méthode de Lowry *et al.*, (1951) est automatisée avec la mesure de l'amylase par iodométrie (Samain et Boucher, 1974).

La mesure des protéases totales a été mise au point au laboratoire après étude des propriétés physico-chimiques de l'activité enzymatique. Les acides aminés libérés par la catalyse enzymatique de l'hydrolyse de la caséine, sont mesurés par une technique de coloration à la ninhydrine.

Les *Artemia* sont mesurées à l'aide d'un micromètre oculaire sous une loupe binoculaire.

Les comptages des cellules phytoplanctoniques sont effectuées au microscope inversé au moyen d'une cellule de Malassez.

### **Evaluation de l'ingestion de phytoplancton chez *Artemia salina*, par la mesure de la densité protéique**

#### *Relations entre l'ingestion et la teneur protéique*

L'ingestion de phytoplancton par *Artemia salina* peut être observée à la loupe binoculaire. Progressivement le tube digestif, clair chez un individu à jeun, se remplit jusqu'à l'émission de la première pelote fécale. La durée de ce transit est souvent inférieure à 35 minutes pour des animaux préalablement mis à jeun durant deux jours (Fig. 1).

La teneur protéique de 20 *Artemia* de 5 mm est étudiée en fonction de cette observation. Après une mise à jeun de 48 heures, dix animaux sont prélevés et dosés pendant que les dix autres sont nourris avec des *Tetraselmis*. 35 minutes après l'addition de nourriture la teneur protéique du deuxième lot est mesurée après vérification de la saturation complète du tube digestif. Une différence protéique de 23 % est obtenue significative au seuil de 5 %.

Une étude plus générale est faite sur une population d'*Artemia* composée d'individus de 4 à 7 mm. Deux lots de 700 animaux sont prélevés dans les mêmes conditions. Un lot est nourri normalement avec du phytoplancton, l'autre est mis à jeun par filtration de

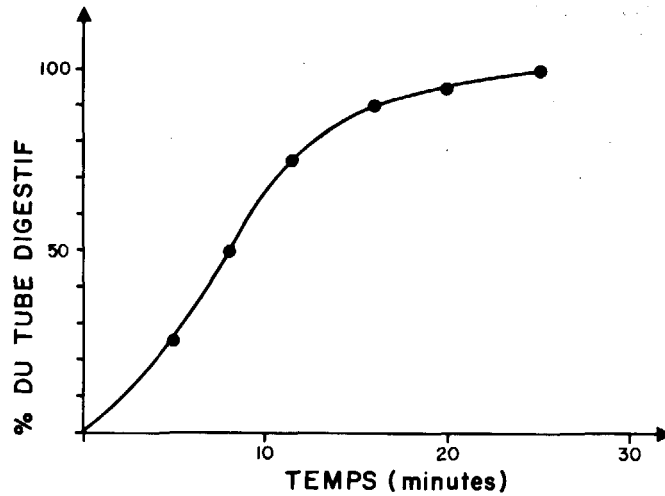


FIG. 1. Observation à la loupe de l'ingestion de phytoplancton en fonction du temps par des *Artemia* à jeun depuis 48 heures.

l'eau de mer de l'élevage (filtre 0.45  $\mu$ m). Après 48 heures dans ces conditions, des prélèvements de trois animaux de même taille (4, 5, 6, 7 mm respectivement) sont effectués sur les deux bacs expérimentaux et les teneurs protéiques analysées. Le reste du lot à jeun est alors renourri par du phytoplancton à la même concentration que le témoin. Quinze heures après, de nouveaux prélèvements et analyses sont effectués.

Les résultats (Tableau I) montrent que des *Artemia* à jeun depuis 2 jours ont la teneur protéique la plus faible. Elles perdent 47 % de leur poids par une dénutrition de 48 heures. Après re-alimentation, le taux de protéines augmente de 27 % en 15 heures.

TABLEAU I

Teneur protéique moyenne en fonction de la taille d'*Artemia* soumises successivement à trois conditions nutritives différentes (valeur protéique pour 3 *Artemia* dans 2 ml d'eau distillée)

Longueur (mm)	Protéines ( $\mu$ g/ml)		
	Nourries	A jeun	Renourries
7	175	115	150
6	125	75	100
5	65	50	55
4	35	25	30

En conclusion, l'importance des variations protéiques enregistrées par une nutrition de 35 minutes montre l'importance du rôle du contenu du tube digestif sur l'évaluation de la teneur protéique des *Artemia*. Cette expérience permet d'attribuer principalement les importantes variations protéiques enregistrées pour des intervalles de temps de 15 à 48 heures, à des variations du contenu du tube digestif.

### 1. Mesure de la densité protéique

L'analyse de la relation entre la longueur de l'animal et son poids (exprimé en quantité de protéines), permet d'obtenir, à partir des données précédentes, trois courbes de type exponentiel, correspondant aux trois conditions de nutrition. Elles sont linéarisables après transformation logarithmique (Fig. 2).

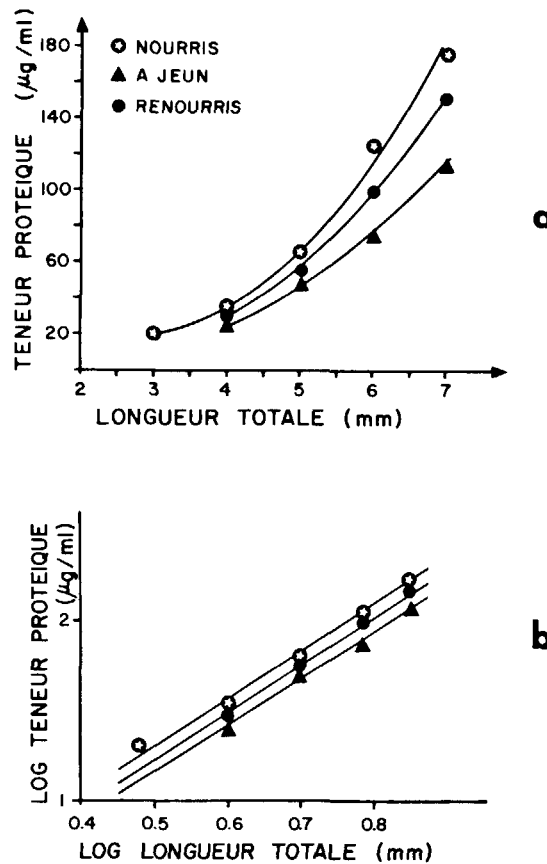


FIG. 2. a. Relation d'allométrie entre la teneur protéique des *Artemia* (3 *Artemia* dans 2 ml d'eau distillée) et leur longueur. b. Transformation logarithmique de la relation d'allométrie.

Ces trois courbes s'expriment suivant une relation d'allométrie  $P = aL^\alpha$ . Pour ces trois expressions,  $\alpha$  qui ne dépend que de la forme de l'organisme est constant et égal à 2.7. "a" varie selon les conditions de nutrition. Ce paramètre est identifiable à la densité de l'organisme. Les variations de densité à courte échelle de temps, sont indépendantes de la croissance et doivent être attribuées à la nutrition.

$$\text{A jeun : } P = aL^\alpha$$

$$\text{En nutrition : } P + \Delta P = bL^\alpha$$

a = densité des *Artemia* dont le tube digestif est vide (TDV)

b = densité des *Artemia* dont le tube digestif est plein (TDP)

$\Delta P$  = augmentation protéique dûe à la nourriture ingérée

$$\text{On peut en déduire } \Delta P = (b - a)L^\alpha$$

Dans des temps d'expérience courts, la mesure statistique de la teneur protéique d'individus de différentes tailles d'une population d'*Artemia*, permet de différencier les variations du contenu de leur tube digestif par la mesure des différences de densité correspondantes.

## 2. Mesure statistique de l'état de nutrition d'une population d'*Artemia*

A partir d'un élevage d'*Artemia*, on isole cinq lots identiques de 100,000 individus de 4 à 6 mm, qui sont ensuite soumis pendant 2 jours à cinq concentrations croissantes en phytoplancton (milieu 0 à 4, respectivement 0, 37.5, 75, 150 et 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour). Les *Tetraselmis* vivantes sont apportées tous les jours à 18 h. Après la période d'adaptation, des prélèvements d'animaux sont effectués toutes les 3 heures pendant 72 heures. Les protéines totales des échantillons sont mesurées sur les cinq milieux. On détermine le nombre d'individus de même teneur protéique pour chaque classe de taille et dans les cinq conditions nutritives. Le spectre de fréquence obtenu est représenté dans la Fig. 3.

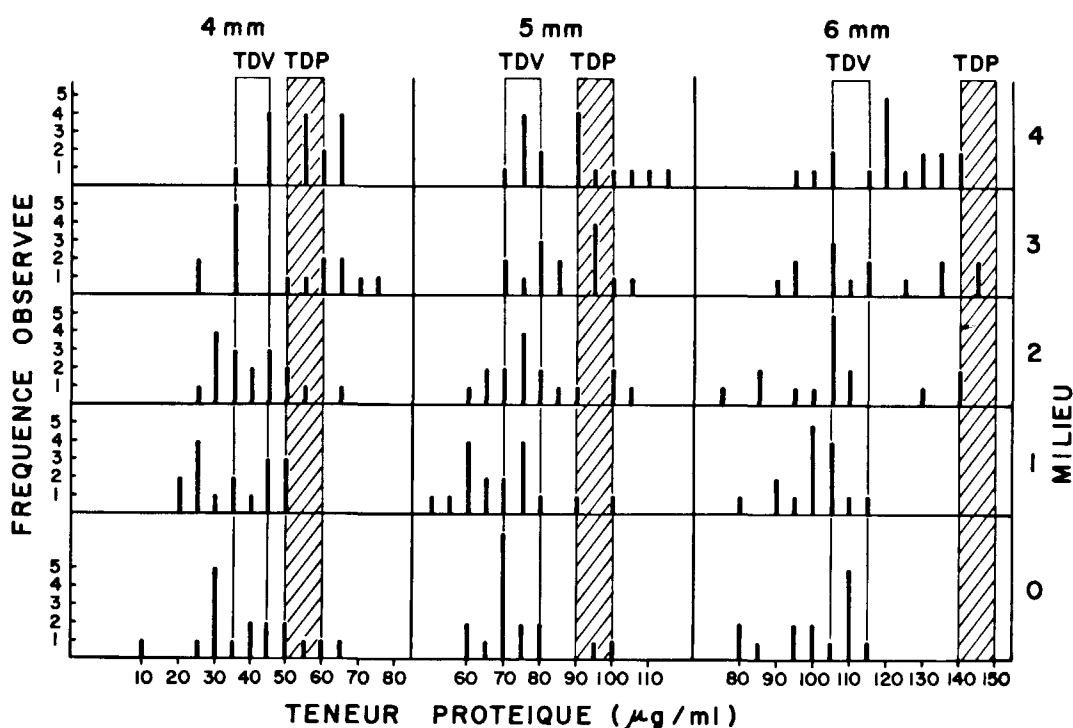


FIG. 3. Diagramme protéique d'*Artemia* de trois classes de taille en fonction de cinq concentrations de phytoplancton (0, 37.5, 75, 150 et 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour) (milieu 0 à 4) (teneur protéique pour 3 *Artemia*/2 ml). TDV : tube digestif vide ; TDP : tube digestif plein.

En effectuant la somme des fréquences dans les cinq milieux pour une même taille d'*Artemia*, on obtient une distribution des fréquences à tendance bimodale. La transformation logarithmique des données obtenues pour chacun des pics de fréquence de même mode, permet d'obtenir deux droites parallèles de pente 2.7 (Fig. 4).

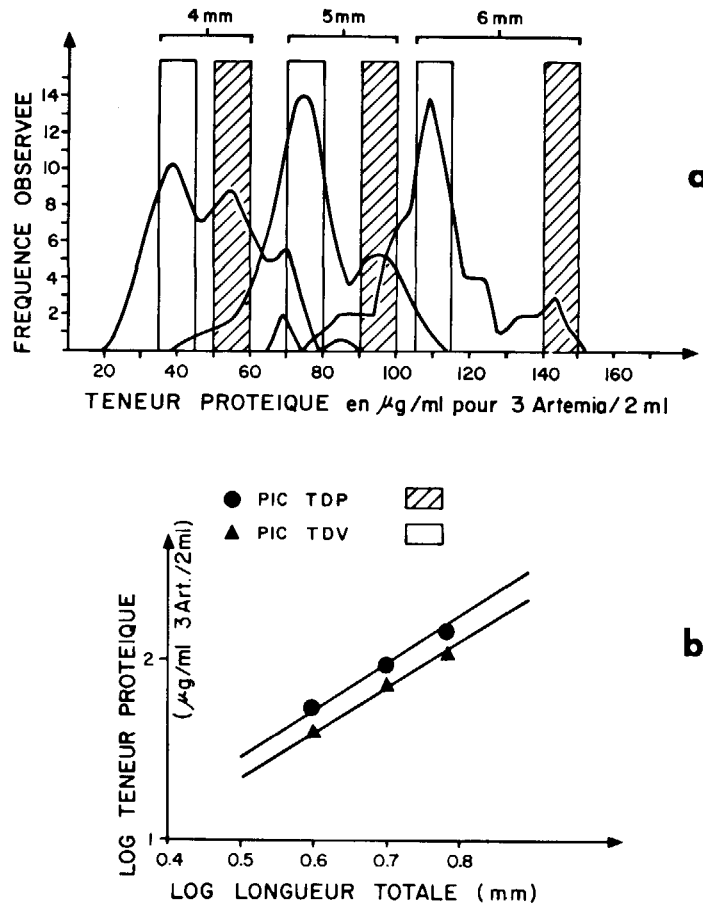


FIG. 4. a. Somme des diagrammes protéiques des *Artemia* de même taille dans cinq milieux nutritifs pour chaque classe de taille 4, 5 et 6 mm. b. Relation d'allométrie pour chaque catégorie d'*Artemia* de faible densité protéique TDV ou de haute densité protéique TDP.

La distribution bimodale des teneurs protéiques traduit la présence de deux catégories d'*Artemia* de densité différente.

Il s'agit de vérifier si cette hétérogénéité est la conséquence d'une adaptation des animaux à 2 jours de régimes différenciés, ou si elle provient de deux états d'alimentation d'animaux au même stade de développement. Dans ce but on recherchera si il existe une distribution protéique bimodale pour des *Artemia* provenant d'un même milieu.

Des animaux sont stabilisés pendant 72 heures dans une seule et même condition de milieu avec une stratégie et un nombre de prélèvements permettant une analyse statistique. Après la période de stabilisation, des séries de dix prélèvements de trois *Artemia* de 5 mm sont effectuées toutes les 3 heures pendant 72 heures sur deux élevages. Les résultats de chacun des élevages sont analysés séparément.

Le spectre de fréquence des *Artemia* de même teneur protéique est déterminé sur les deux élevages étudiés (Figs 5 et 6). On définit d'après la relation taille-poids, deux catégories d'animaux correspondant aux deux densités protéiques TDP et TDV de l'expérience précédente. Le pourcentage d'animaux de chacune des catégories par rap-



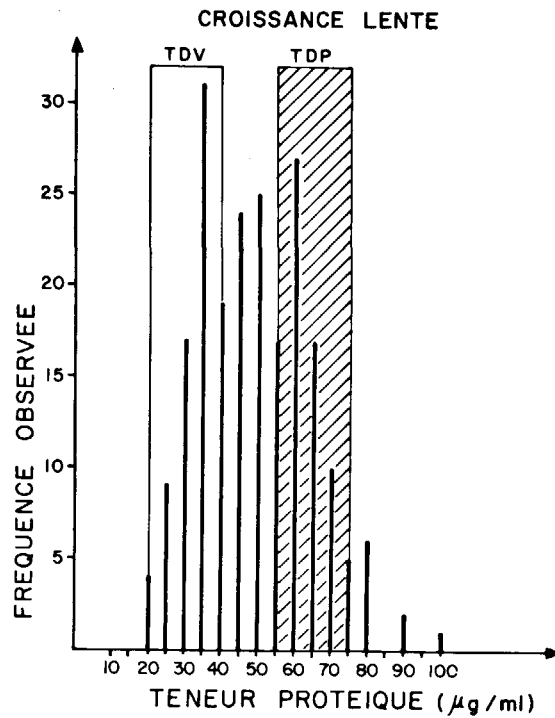


FIG. 5. Diagramme protéique d'*Artemia* de 5 mm (3 *Artemia*/2.5 ml) obtenu après une croissance en conditions limitantes de nutrition (expérience 1). *Artemia* de faible densité protéique TDV, de haute densité protéique TDP.

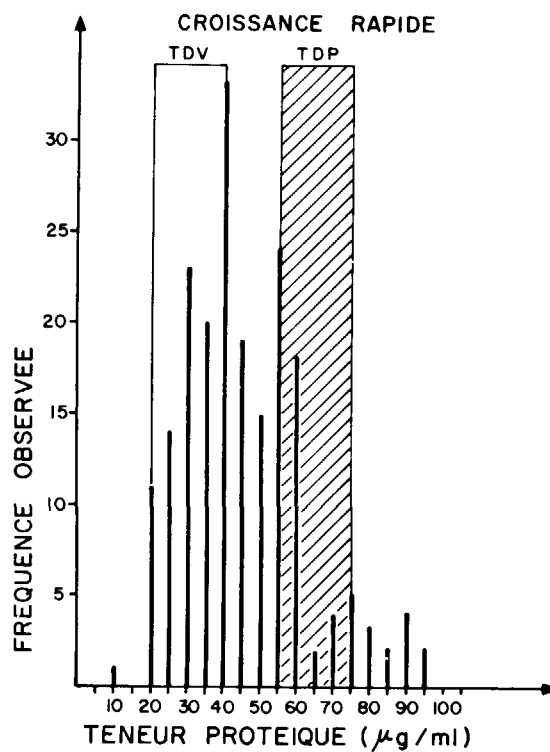


FIG. 6. Diagramme protéique d'*Artemia* de 5 mm (3 *Artemia*/2.5 ml) obtenu après une croissance en conditions optimales de nutrition (expérience 2). *Artemia* de faible densité protéique TDV, de haute densité protéique TDP.

port à la population totale est étudié en fonction de l'heure. Il permet d'obtenir deux courbes semblables dans leurs variations, bien qu'une partie de la population, dont la situation protéique est intermédiaire aux deux catégories isolées, ne soit pas prise en compte (Fig. 7). En ne considérant que les animaux sélectionnés, la détermination du pourcentage d'*Artemia* de l'une ou l'autre des densités considérées, en fonction du temps, permet de résumer les deux courbes précédentes (Fig. 7).

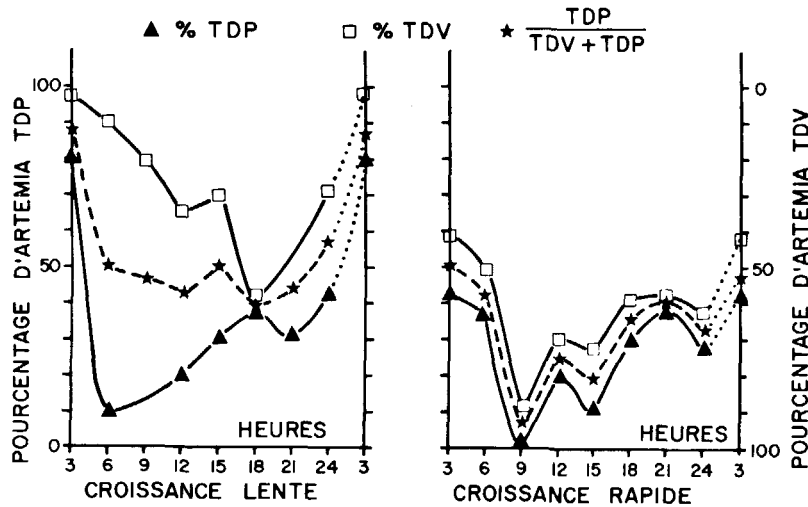


FIG. 7. Evolution journalière du pourcentage d'*Artemia* TDP ▲ ou TDV □ (coordonnée inversée) par rapport à la population totale. Pourcentage d'*Artemia* TDP ou TDV par rapport à la somme des *Artemia* de ces deux catégories \*. Expérimentation sur deux élevages d'origine différente: expérience 1 et expérience 2.

Cette courbe peut être comparée à l'évolution journalière de la teneur protéique moyenne de la population totale : les teneurs protéiques des échantillons sont mesurées et la valeur moyenne est déterminée en fonction de l'heure pour les trois jours (30 mesures par temps) (Fig. 8).

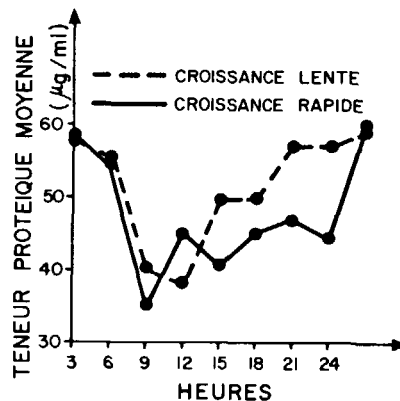


FIG. 8. Evolution journalière de la teneur protéique d'*Artemia* de 5 mm dans deux conditions d'élevages différentes: expérience 1 et expérience 2 (3 *Artemia* dans 2.5 ml d'eau distillée).

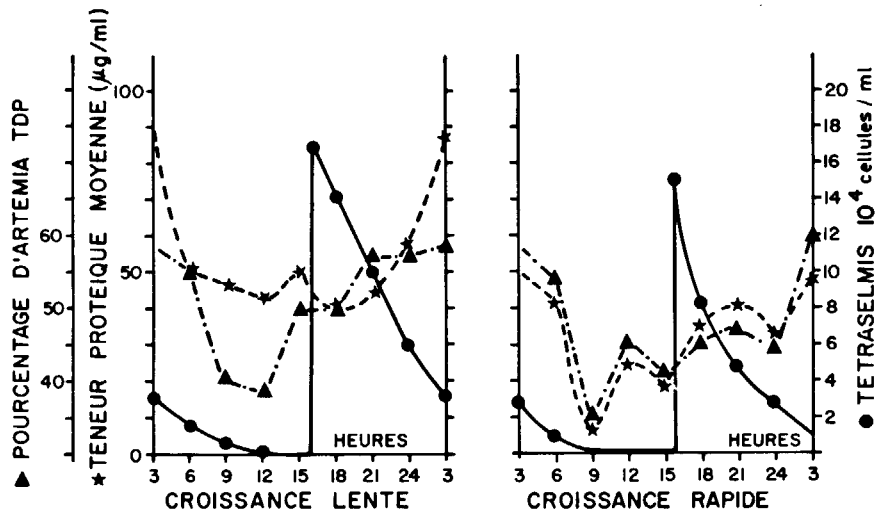


FIG. 9. Comparaison du pourcentage d'*Artemia* TDV ou TDP en fonction du temps et de la valeur protéique moyenne de la population d'*Artemia* de même taille dans deux conditions d'élevage différentes : expérience 1 et expérience 2. Comparaison avec le grazing.

La courbe de répartition journalière des animaux dans les deux catégories considérées est semblable à la courbe d'évolution journalière des protéines (Fig. 9). Les résultats sont identiques dans les deux expériences. La différence protéique moyenne à midi et à 3 heures est hautement significative (Tableau II). La teneur protéique est supérieure la nuit. Le rythme protéique que nous mettons en évidence correspond au passage journalier des animaux d'une catégorie de densité à l'autre. Il traduit donc l'évolution temporelle de l'état d'ingestion des *Artemia*.

TABLEAU II

Test-t : Comparaison des moyennes des teneurs protéiques des *Artemia* de 5 mm à 12 heures et à 3 heures (valeur protéique pour 3 *Artemia* dans 2.5 ml d'eau distillée)

Heures	n	M	$\sigma^2$	$\epsilon$
12	30	39.5	199	6.84
3	30	60.3	78	

La concentration des cellules de *Tetraselmis* a été mesurée à chaque prélèvement d'*Artemia* ; on observe une décroissance cellulaire en fonction du temps, en synchronisation avec le gain protéique des animaux (Fig. 9). Le gain protéique enregistré est donc attribuable à l'ingestion de phytoplancton.

En conclusion, la présence dans une population d'*Artemia* d'une hétérogénéité dans le diagramme protéique d'individus de même taille, est en relation directe avec l'ingestion du phytoplancton. Les pics de fréquence d'animaux peu denses sont attribuables à des animaux dont le tube digestif est vide (TDV), les pics de fréquence des animaux denses,

aux animaux dont le tube digestif est plein (TDP). Le passage d'un état à l'autre est rapide et s'effectue selon un rythme journalier.

*Modalités de l'ingestion*

Les courbes d'ingestion peuvent être calculées pour les cinq milieux d'élevage définis précédemment (Fig. 10). On observe la diminution progressive du pic nocturne dans les milieux les moins riches en *Tetraselmis*. La présence d'un pic secondaire se situant entre 9 h et 15 h, est visible dans tous les milieux. Les mesures de "grazing" ne font apparaître à cette période aucune concentration en phytoplancton dans les milieux avec apport de nourriture et le même phénomène est observé dans le milieu maintenu sans cellule végétale. Sans apport discontinu de nourriture, les *Artemia* de ce milieu ont une nutrition activée deux fois par jour.

Pour les animaux nourris de façon discontinue, l'hypothèse d'une activation nocturne par l'apport de nourriture est possible. La nutrition secondaire diurne proviendrait d'une activation par la présence d'un nouveau stock de particules à filtrer, pouvant être at-

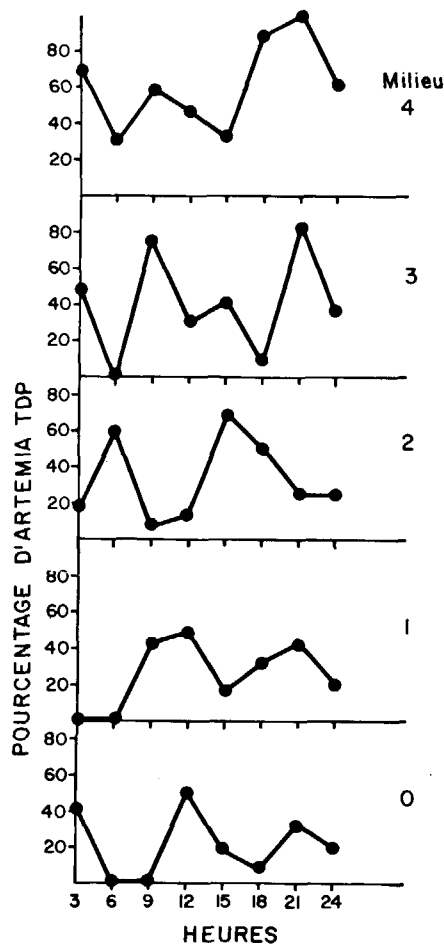


FIG. 10. Evolution journalière de la teneur protéique d'*Artemia* de 4, 5 et 6 mm nourries à cinq concentrations de nourriture (milieux 0 à 4, respectivement 0, 37.5, 75, 150, 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour).

tribué à l'émission de pelotes fécales en relation avec la nutrition nocturne. Cependant l'analyse du milieu sans apport de nourriture permet d'éluder cette hypothèse et de penser que l'induction est indépendante de cet apport. Il est en effet peu probable que dans ce milieu la présence des particules (bactéries, mues, débris organiques ...) soit soumise à un phénomène cyclique.

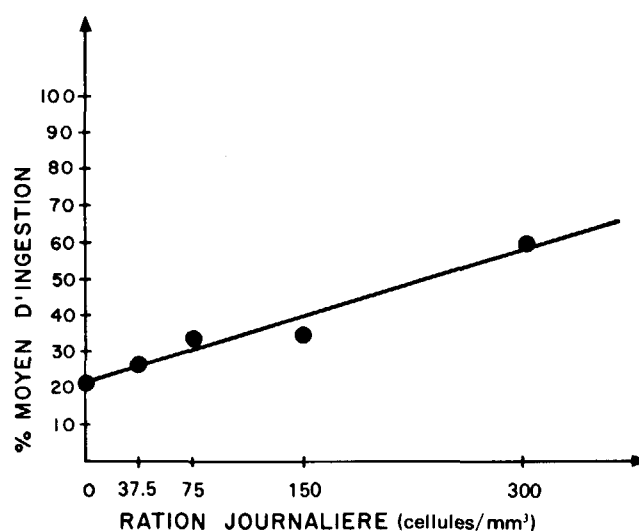


FIG. 11. Etat moyen d'ingestion d'une population d'*Artemia* de 4, 5 et 6 mm en fonction de cinq concentrations de nourriture disponible (milieux 0 à 4, respectivement 0, 37.5, 75, 150, 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour).

L'intégration sur 24 heures des courbes d'ingestion, par rapport aux axes définis par le temps et le pourcentage d'ingestion, est calculée et tracée en fonction de la quantité de nourriture disponible (Fig. 11). L'ingestion est une fonction directe de la quantité de nourriture disponible. A la concentration nulle en phytoplancton, l'ingestion reste significative, la mise à jeun des *Artemia* par filtration de l'eau de mer est très relative.

Le pourcentage d'animaux TDP par rapport à la population totale est détaillé en fonction de la taille dans les cinq concentrations de nourriture étudiées (Tableau III).

TABLEAU III

Pourcentage d'*Artemia* observées avec le tube digestif plein (TDP) en fonction de la taille des individus et des conditions nutritives du milieu

Milieu	Taille (mm)		
	6	5	4
0	0	15	38
1	0	22	60
2	20	27	40
3	30	45	29
4	50	46	89
% TDP	20	32	50

Pour chaque classe de taille, l'ingestion est proportionnelle à la quantité de nourriture disponible. Cependant, le comportement alimentaire varie selon les tailles. Les *Artemia* de petite taille sont observables dans l'état TDP, même dans les milieux les moins riches en phytoplancton. Pour les individus de 6 mm, cet état n'est possible qu'à partir du milieu 2. Les *Artemia* de cette taille se nourrissent très certainement dans les milieux 0 et 1 mais n'atteignent jamais l'état TDP.

Le phénomène peut être passif : en effet si les vitesses de filtration sont identiques quelle que soit la taille, certaines concentrations cellulaires peuvent être insuffisantes pour saturer tous les tubes digestifs. Cependant, pour une même taille et une même concentration d'algues, tous les individus de la population ne sont pas dans le même état (Fig. 3). Il existe des comportements individuels qui diffèrent peut-être au niveau de la vitesse de filtration ou de la recherche de nourriture. Le phénomène est alors actif. On enregistre dans ce cas une activité nutritive plus intense chez les petites *Artemia*.

## Discussion

L'importance de la variabilité de la teneur protéique d'*Artemia* de même taille et provenant de mêmes conditions d'élevage est considérable. La démonstration de la relation entre teneur protéique et ingestion de phytoplancton doit être accompagnée de la recherche d'autres sources possibles de variation. Nous avons envisagé l'intervention des cycles de mues pouvant effectivement donner des individus denses ou peu denses pour une même taille, selon que l'*Artemia* vient de muer ou s'apprête à une nouvelle mue. On ne peut retenir cette hypothèse car la présence marquée du double mode dans l'analyse statistique implique que le passage d'un mode à l'autre soit rapide. Dans le cas contraire, on obtiendrait une courbe gaussienne. Or si l'observation permet de constater le passage d'un état TDV à TDP en moins de 35 minutes, une telle vitesse de synthèse de protéines pour un animal venant de muer n'est pas envisageable. D'autre part il faudrait que les *Artemia* muent de façon synchrone avec un rythme journalier. Nous n'avons pu observer un tel phénomène sur des individus prélevés en fonction de l'heure et étudiés par microscopie.

L'existence d'une alimentation discontinue a déjà été suggérée par Gauld (1953) sur des Copépodes en élevage. Nous avons de même trouvé des rythmes de synthèse des enzymes digestives amylase, protéases, trypsine en relation avec l'ingestion de phytoplancton marqué au  $C^{14}$  sur diverses espèces de Copépodes en élevage (Boucher *et al.*, sous presse) et dans le milieu naturel (Boucher et Samain, 1974). L'apport de nourriture ne paraît pas être le seul facteur inducteur du rythme. Nous observons le même résultat pour des Copépodes dans un écosystème naturel. Un protocole expérimental mieux adapté est envisagé pour résoudre ce problème.

Les travaux sur le zooplancton dans le milieu naturel suggèrent le caractère bimodal du rythme de nutrition (Boucher *et al.*, sous presse). Les expérimentations sur *Artemia salina* sont en accord avec ce mécanisme. On peut espérer que pour des élevages contrôlés, le rendement de la nutrition sera supérieur si l'apport de nourriture est effectué aux heures propices à la consommation, surtout dans le cas de nourritures fragiles.

La relation linéaire trouvée entre l'ingestion et la quantité de nourriture disponible est en accord avec les travaux de Reeve (1963a) pour les concentrations de *Tetraselmis* que nous avons utilisées.

**Signification biologique des activités des enzymes digestives amylase et protéases**

*Activités enzymatiques digestives et quantité de nourriture disponible*

Sur les élevages d'*Artemia* mis en équilibre à cinq concentrations de *Tetraselmis*, les dosages de l'amylase et des protéases sont effectués simultanément avec le dosage

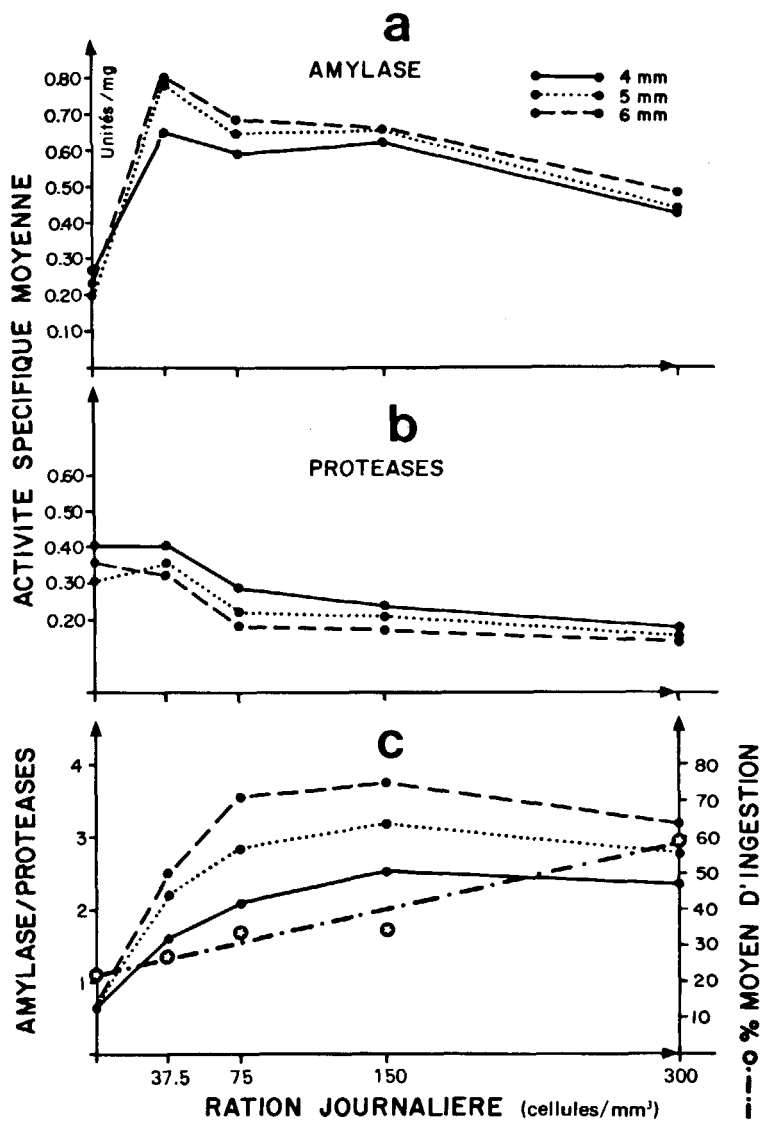


FIG. 12. a. Relation entre l'activité spécifique de l'amylase (unité/mg) et la quantité de nourriture disponible pour trois classes de taille (4, 5 et 6 mm). b. Relation entre l'activité spécifique des protéases (unité/mg) et la quantité de nourriture disponible pour les trois classes de taille (4, 5 et 6 mm). c. Relation entre le rapport des activités de l'amylase et des protéases et la quantité de nourriture disponible pour les trois classes de taille 4, 5 et 6 mm. Comparaison avec l'état moyen d'ingestion de la population.

des protéines. Des lots de trois animaux de 4, 5, et 6 mm sont prélevés toutes les 3 heures, pendant 72 heures. Les valeurs moyennes des activités spécifiques sont calculées sur 3 jours pour chaque classe de taille, en fonction du milieu.

L'activité spécifique de l'amylase, faible dans le milieu dépourvu de phytoplancton, devient forte et atteint un niveau constant dès la concentration de 37.5 cellules/mm<sup>3</sup>/jour (milieu 1). Elle décroît ensuite significativement dans le milieu le plus riche (milieu 4: 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour) (Fig. 12).

Dans une gamme de concentration faible en nourriture disponible, la présence de phytoplancton active la synthèse de l'amylase. Un phénomène de saturation intervient ensuite, pendant lequel l'activité enzymatique est maximale et indépendante de l'augmentation de nourriture. Enfin la décroissance de l'activité est interprétée comme une répression de la synthèse de l'enzyme par un excès d'algues.

L'activité spécifique des protéases est inversement proportionnelle à la concentration en *Tetraselmis*. Ceci est interprétable par l'hypothèse d'une répression de la synthèse des protéases par un régime à base de phytoplancton. L'activité est minimum dès le milieu 2 (75 cellules/mm<sup>3</sup>/jour), seuil à partir duquel la teneur en protéases est indépendante de la quantité de nourriture disponible (Fig. 12).

L'analyse du rapport A/P met en évidence la symétrie entre les deux régulations et permet d'observer une adaptation du régime alimentaire des *Artemia* en fonction de la nourriture phytoplanctonique disponible. Ce rapport permet, en outre, de définir le seuil à partir duquel le régime devient strictement herbivore (amylase maximum, protéases minimums). Dans cette expérience, le milieu 3 (150 cellules/mm<sup>3</sup>/jour) répond à ces critères (Fig. 12).

La comparaison entre les courbes A/P et la courbe d'ingestion, calculée d'après les variations des teneurs protéiques des *Artemia*, montre que l'ingestion continue de croître dans le milieu 4, bien que le rapport A/P soit maximum dès le milieu 3 (Fig. 12).

L'équipement enzymatique pour la digestion de la nourriture ingérée atteint un équilibre stable avant que l'ingestion ne soit maximum. On peut supposer que les conditions optimales d'assimilation sont obtenues pour la concentration de nourriture phytoplanctonnée minimum provoquant l'activation maximum du rapport A/P. Ces conditions sont réunies dans le milieu 3.

Ce résultat se confirme par l'observation du début de répression du métabolisme de l'amylase dans le milieu 4. On peut remarquer que le seuil optimum d'assimilation est le même pour les trois classes de taille considérées. Ces observations sont en accord avec la théorie de "superfluous feeding" développée pour des organismes similaires par Beklemishev (1963).

#### Détermination des activités spécifiques

Pour définir les effets de l'erreur introduite dans la détermination des activités spécifiques par l'interférence des protéines ingérées, on définit une activité spécifique corrigée par individu de même taille: l'activité enzymatique est rapportée à la teneur protéique moyenne des animaux dont le tube digestif est vide, dans la classe de taille considérée.



TABLEAU IV

Influence de la teneur en protéines ingérées sur la détermination des activités spécifiques de l'amylase. Comparaison des activités spécifiques corrigées ( $A_c$ ) et expérimentales ( $A_{ex}$ ) pour trois classes de tailles et cinq conditions de nutrition (milieux 0 à 4, respectivement 0, 37.5, 75, 150, 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour)

Taille (mm)	Amylase	Milieu				
		0	1	2	3	4
4	$A_{ex}$	0.27	0.66	0.59	0.63	0.44
	$A_c$	0.30	0.72	0.65	0.86	0.67
5	$A_{ex}$	0.20	0.58	0.66	0.67	0.45
	$A_c$	0.20	0.75	0.66	0.74	0.50
6	$A_{ex}$	0.23	0.80	0.68	0.67	0.48
	$A_c$	0.21	0.76	0.67	0.69	0.51

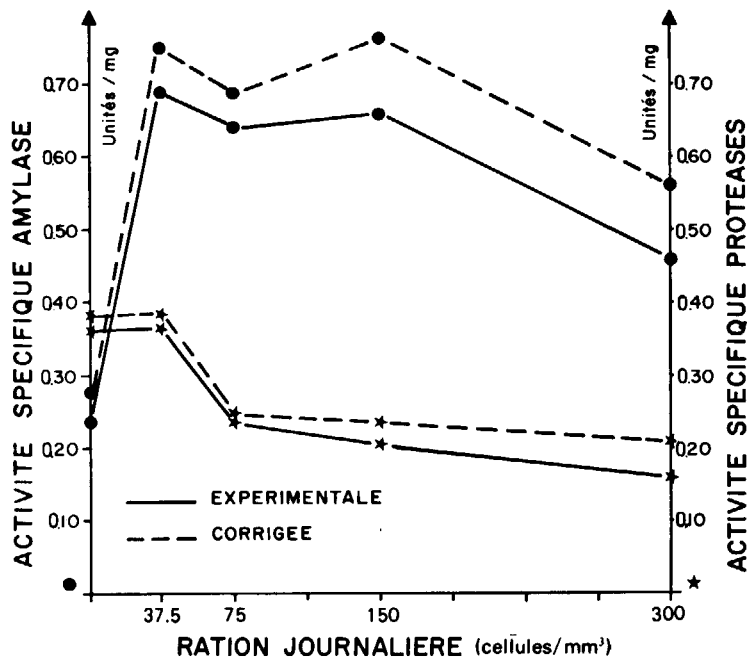


FIG. 13. Interférence des protéines ingérées sur la valeur de l'activité spécifique des enzymes digestives amylase et protéases (valeur moyenne pour les trois tailles).

$$A_{ex} = \frac{[E]}{[P_s] + [P_i]}$$

$A_{ex}$  = activité spécifique expérimentale

[E] = concentration enzymatique

$P_s$  = protéines de structure

$P_i$  = protéines ingérées

$$A_c = \frac{[E]}{[P_s]} \frac{[E]}{[P_v]}$$

$A_c$  = activité spécifique corrigée

$P_v$  = teneur protéique moyenne des animaux de même taille et de tube digestif vide.

La comparaison entre  $A_{ex}$  et  $A_c$  dans la relation avec la quantité de nourriture disponible (Tableau IV) montre que l'erreur est importante pour les animaux de petite taille et dans les milieux les plus concentrés en phytoplancton. Ceci résulte de l'influence des taux d'ingestion différenciés que nous venons d'observer selon les diverses classes de taille. Cependant ce phénomène tout en perturbant la valeur absolue de l'activité spécifique, ne change pas l'allure générale des courbes (Fig. 13).

*Relation entre les activités enzymatiques digestives et le contenu du tube digestif*

Nous venons de montrer précédemment que le contenu du tube digestif des individus d'une population d'*Artemia* peut varier pour un même milieu nutritif. Une partie de la population peut être classée en animaux dont le tube digestif est vide (TDV) l'autre dont le tube digestif est plein (TDP) L'analyse des activités enzymatiques digestives correspondantes a été effectuée concurremment avec l'analyse protéique et la détermination des deux catégories de densité.

TABLEAU V

Test-t: comparaison des moyennes de l'activité spécifique corrigée.  
A: de l'amylase des animaux TDP et TDV. B: des protéases des animaux TDP et TDV

A. Amylase spécifique				
Expérience	Moyenne (utés/mg)		Ecart réduit $t$	Ecart significatif (%)
	TDP	TDV		
1	0.406	0.300	7.8	> 99
2	0.307	0.212	5.9	> 99
B. Protéases spécifiques				
Expérience	Moyenne (utés arbitraires/mg)		Ecart réduit $t$	Ecart significatif (%)
	TDP	TDV		
1	119	145	1.85	93
2	133	139	0.39	30

Des animaux de 5 mm provenant de deux élevages différents par leurs conditions de croissance sont maintenus depuis 3 jours dans les mêmes conditions nutritives, les prélèvements sont effectués pendant 72 heures toutes les 4 heures.

L'analyse des écarts entre les moyennes (test t) de l'activité spécifique amylasique corrigée de chaque classe de poids, montre que l'activité enzymatique est significativement supérieure chez les animaux dont le tube digestif est plein (Tableau V).

Pour les protéases, l'analyse des écarts entre les moyennes montre une activité significativement supérieure chez les animaux dont le tube digestif est vide, dans un seul cas d'élevage (Tableau V) (seuil 10 %).

D'après l'analyse protéique, différents états de nutrition sont possibles pour des *Artemia* d'un même milieu. En particulier, on observe des animaux dont le tube digestif est vide dans des milieux pourvus en nourriture. Leurs taux enzymatiques peuvent être comparés à ceux des *Artemia* du milieu dépourvu de phytoplancton (Fig. 14).

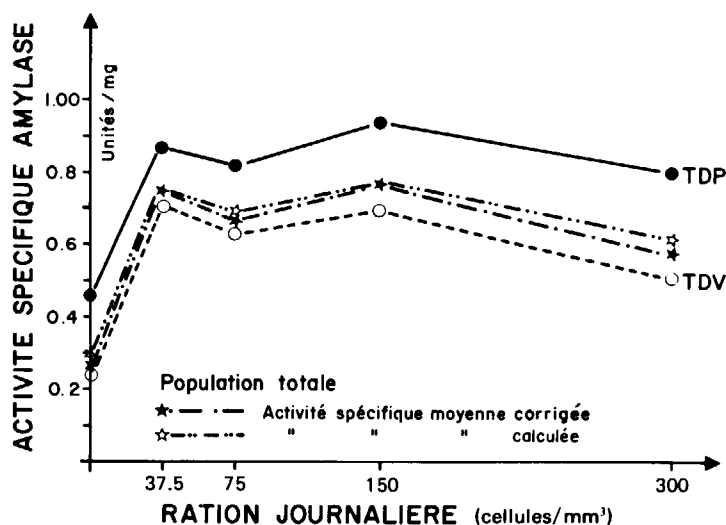


FIG. 14. Relation entre l'activité spécifique corrigée de l'amylase des catégories TDP et TDV en fonction de la quantité de nourriture disponible. Comparaison de l'activité spécifique moyenne corrigée de la population et de l'activité spécifique calculée.

Contrairement au taux très bas de l'amylase des *Artemia* du milieu à jeun, les individus TDV des milieux nourris ont un niveau d'activité élevé dépendant du niveau TDP. L'état TDV serait donc un état transitoire que nous considérons comme une phase de repos entre deux phases de nutrition, comme l'analyse protéique de l'ingestion nous l'a suggéré. La loi définissant le niveau TDV à partir du niveau TDP est probablement une loi de dilution. Dès l'arrêt de la synthèse enzymatique, les molécules sont progressivement éliminées par dilution dans le tractus digestif. La vitesse de disparition de l'enzyme ne dépendrait donc que de sa concentration initiale  $[E_0]$

$$\frac{d[E]}{dt} = k[E_0] \quad \text{vitesse d'ordre 1}$$

à l'instant t, la concentration enzymatique E] suit la loi :

$$\log [E] = k t + \log [E_0]$$

k étant une constante caractéristique du phénomène. Cette loi est valable à tout instant. Le niveau enzymatique est défini par la compétition entre la loi de synthèse et la loi de dilution.

Nous avons recherché la relation entre la concentration en amylase et la nourriture ingérée. Pour des *Artemia* de même taille, nous avons montré que les fluctuations rapides (inférieures à 48 heures) de leur teneur protéique étaient attribuables aux variations du contenu de leur tube digestif. La corrélation entre l'activité de l'amylase et la teneur protéique d'*Artemia* de 5 mm correspond à la relation entre l'activité enzymatique et la quantité de nourriture ingérée. La régression obtenue est significative au seuil de 1 % (Fig. 15). Dans le cas d'une nutrition à base de phytoplancton, la concentration de l'amylase est proportionnelle au contenu du tube digestif.

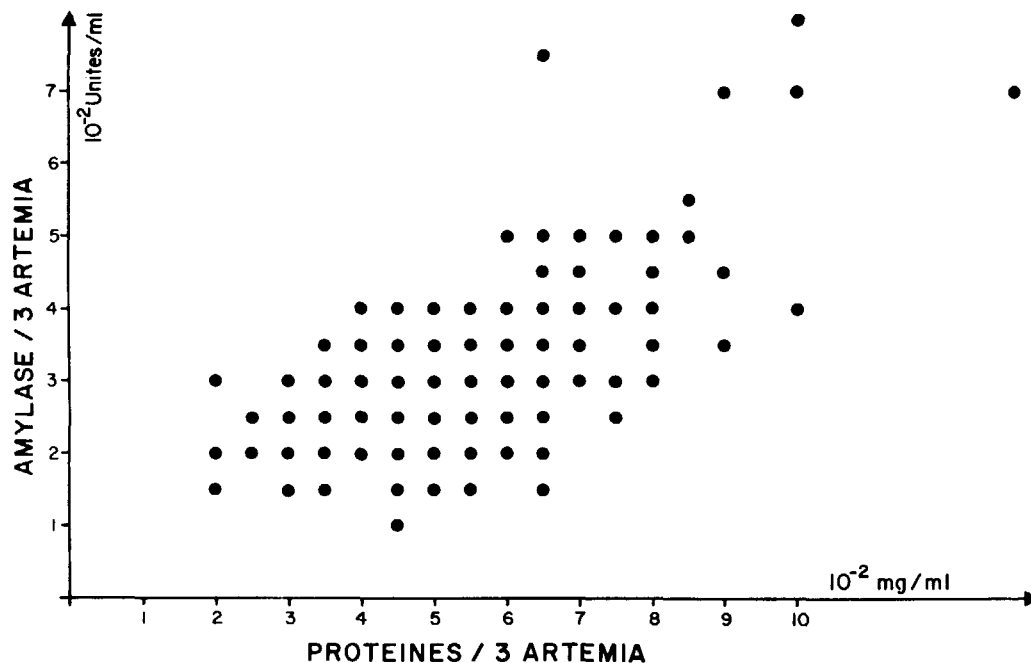


FIG. 15. Relation entre la teneur protéique et l'activité amylasique d'*Artemia* de 5 mm (teneurs calculées pour 3 *Artemia*/2.5 ml d'eau distillée).

#### *Ingestion rythmée et enzymes digestives*

L'étude de la nutrition des *Artemia* par l'analyse protéique a fait apparaître un rythme alimentaire journalier. La nourriture étant à base de phytoplancton, nous étudierons particulièrement les effets de ce rythme sur les taux d'amylase. La relation entre l'amylase et la nourriture végétale ingérée nous permet de supposer que l'on observera un rythme de synthèse de cette enzyme. De plus il s'agira de vérifier s'il est possible d'observer un rythme de sécrétion enzymatique pour des animaux dans un même état d'ingestion.

L'activité spécifique de l'amylase des animaux dont le tube digestif est vide (TDV) ou plein (TDP) est étudiée en fonction du temps (Fig. 16). L'activité spécifique de l'amylase des animaux de chacune des catégories est indépendante de l'heure de prélèvement. A un état d'ingestion déterminé ne correspond qu'une seule activité enzymatique.

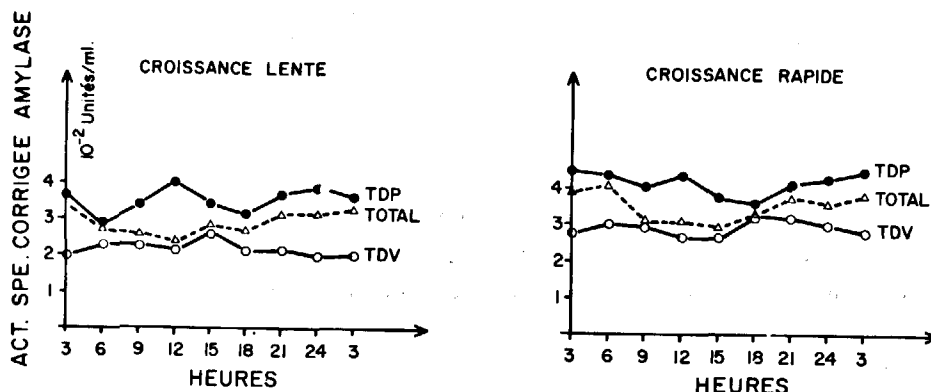


FIG. 16. Evolution journalière de l'activité spécifique corrigée de l'amylase des catégories TDP et TDV. Evolution journalière de l'activité spécifique corrigée de l'amylase de la population totale  $\Delta$ . Comparaison de deux conditions d'élevage différentes: expérience 1 et expérience 2.

L'étude de l'activité spécifique moyenne de l'amylase de toute la population en fonction de l'heure, permet de mettre en évidence un rythme avec un maximum nocturne et un minimum diurne. L'activité évolue entre les deux seuils définis par les taux enzymatiques des *Artemia* TDV et TDP (Fig. 16). L'étude statistique des activités

TABLEAU VI

Test-t: comparaison des moyennes de l'activité spécifique corrigée.  
 A: de l'amylase entre le jour et la nuit. B: des protéases entre le jour et la nuit.  
 Jour: 6h-20h; nuit: 21h - 5h

A. Amylase spécifique corrigée				
Expérience	Moyenne (utés/mg)		Ecart réduit $\epsilon$	Ecart significatif (%)
	Jour	Nuit		
1	0.273	0.329	3.6	> 99
2	0.338	0.381	2.8	> 99

B. Protéases spécifiques corrigées				
Expérience	Moyenne (utés arbitraires/mg)		Ecart réduit $\epsilon$	Ecart significatif (%)
	Jour	Nuit		
1	141	137	0.35	27
2	163	109	4.70	> 99

spécifiques corrigées de l'amylase, montre que les niveaux sont significativement plus hauts la nuit que le jour (seuil 1 %) (Tableau VI). Ces résultats sont en accord avec la mise en évidence d'une ingestion rythmée définie par l'analyse protéique.

L'activité des protéases est significativement supérieure le jour uniquement dans l'une des expériences (Tableau VI). Le jour, le nombre d'animaux TDV étant le plus important, ce résultat complète celui de la première expérience dans laquelle on observe dans l'un des cas, une activité protéasique supérieure chez les animaux TDV par rapport à celle des *Artemia* TDP (Tableau VI).

#### Modélisation de l'activité amylasique

D'après les résultats précédents, l'amylase est proportionnelle à la quantité de nourriture phytoplanctonnée ingérée. Dans le cas théorique où l'on classe tous les individus d'une population dans les catégories TDV et TDP, les activités amylasiques correspondantes étant des constantes, l'activité de la population ne va dépendre que des fluctuations du nombre d'individus en nutrition.

On exprime cette relation par l'expression :

$$A = \frac{(N_{TDV} \cdot [E]_{TDV}) + (N_{TDP} \cdot [E]_{TDP})}{N_{TDV} + N_{TDP}}$$

A = activité amylasique théorique de la population

$N_{TDV}$  et  $N_{TDP}$  = nombre dans l'état TDV ou TDP

$[E]_{TDV}$  ou  $[E]_{TDP}$  = concentration amylasique des individus TDV ou TDP

L'activité amylasique théorique des *Artemia* en présence de cinq concentrations de phytoplancton est calculée et comparée à l'activité moyenne expérimentale. Les courbes obtenues sont similaires (Fig. 14).

#### Discussion

On distingue deux niveaux dans la régulation des enzymes digestives amylase et protéases. Un niveau primaire, concernant l'activité spécifique moyenne qui dépend de la concentration de phytoplancton disponible dans le milieu, un niveau secondaire modulant cette activité moyenne selon un rythme journalier.

Le niveau primaire de régulation comporte deux à trois phases selon la quantité de nourriture disponible et les enzymes digestives considérées : une phase proportionnelle (amylase) ou inversement proportionnelle (protéases), une phase stationnaire de saturation (amylase) ou d'indépendance (protéases), une phase de répression par excès de nourriture (amylase). Cette dernière phase correspond à l'observation de Sushchenya (1962) rapportant que le degré d'assimilation de la nourriture pour les *Artemia* est inversement proportionnel à sa concentration dans le milieu (à partir de 200 cellules de levure/mm<sup>3</sup>). De ce fait la mesure du rapport amylase/protéases permet de déterminer le seuil optimum de concentration de nourriture engendrant l'assimilation la plus efficace.

Le niveau secondaire est régulé par la mise en nutrition rythmée des *Artemia*. La combinaison de la durée de la phase d'excitation et de l'amplitude des synthèses en-

*Protéines, amylase, protéases et nutrition chez Artemia salina*

zymatiques correspondantes devra permettre ultérieurement de comprendre les relations entre les deux niveaux de régulation.

*Discussion sur l'interférence des protéines dans la détermination des activités spécifiques*

Chez *Artemia salina*, l'ingestion de phytoplancton se traduit par une augmentation des protéines totales de l'animal parfois plus rapide que l'augmentation simultanée des activités enzymatiques. L'utilisation de la teneur protéique en tant que référence pondérale perturbe la valeur de l'activité spécifique en la minimisant dans les cas de fortes ingestions.

La perturbation n'est sensible que dans l'analyse des phénomènes fins du rythme de nutrition journalier (Fig. 17). Elle intervient peu dans la détermination du niveau enzymatique moyen représentatif de la réponse de l'animal aux conditions nutritives du milieu, ni dans la détermination du régime alimentaire, des seuils d'assimilation et de régime strict.

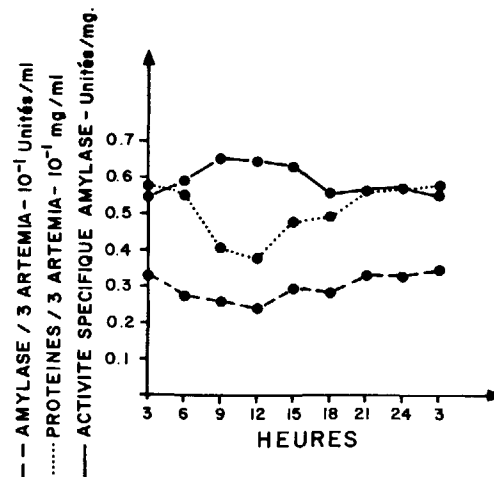


FIG. 17. Evolution journalière de la teneur protéique, de l'amylase et de l'activité spécifique d'*Artemia* de même taille. Interférences des protéines ingérées sur l'activité spécifique de l'amylase.

Dans le cas d'*Artemia*, l'étude des mécanismes fins demande le recours à une autre référence. Si la sélection des *Artemia* de même taille est possible, elle reste longue et impraticable pour des animaux de taille inférieure. Cependant, les résultats que nous avons obtenus en mer (Boucher *et al.*, 1975, sous presse) sur les Copépodes impliquent que la perturbation protéique n'a pas eu d'influence sur la valeur de l'activité spécifique enzymatique. En effet, pour de tels animaux, le contenu du tractus digestif est peu important devant le poids total de l'animal. De plus dans la nature, les Copépodes n'ont jamais l'occasion de rencontrer les concentrations cellulaires que nous avons utilisées, ce qui rend les taux d'ingestion très inférieurs à ceux que nous enregistrons en élevage. Dans ce cas l'interférence protéique de la nourriture ingérée ne perturbe pas l'activité spécifique enzymatique.

**Aspects d'application de la mesure des enzymes digestives amylase et protéases, à l'étude de la nutrition d'*Artemia salina***

L'approche des mécanismes régulateurs de la synthèse des enzymes digestives amylase et protéases, dans le cas d'une nourriture végétale permet d'expliquer deux aspects de la nutrition chez *Artemia salina*.

*Ingestion protéique et synthèses enzymatiques*

Les relations entre l'ingestion de nourriture et les synthèses enzymatiques sont étudiées sur les élevages soumis à cinq concentrations de phytoplancton (Fig. 18) que nous avons précédemment décrits.

Le caractère rythmique et bimodal de l'ingestion a été mis en évidence par l'analyse protéique.

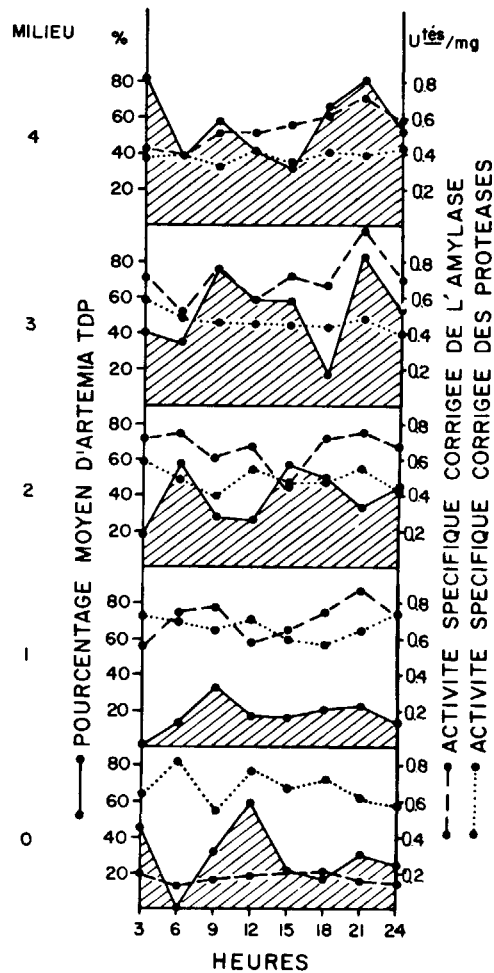


FIG. 18. Comparaison de l'évolution journalière de la teneur protéique d'*Artemia* de 4, 5 et 6 mm dans cinq concentrations de nourriture disponible (milieux 0 à 4, respectivement 0, 37.5, 75, 150, 300 cellules/mm<sup>3</sup>/jour) et de l'évolution journalière de l'activité spécifique corrigée de l'amylase et des protéases.



Aux fortes concentrations de phytoplancton, l'ingestion protéique se produit pendant la phase nocturne en relation avec le grazing. L'alimentation diurne apparaît comme secondaire. On constate le même mécanisme pour l'amylase, dont l'activation principale est nocturne (milieux 3 et 4) avec un pic secondaire diurne. L'orientation de la nutrition sur les particules végétales est confirmée par les niveaux très bas des protéases.

Aux faibles concentrations de phytoplancton, les tendances s'inversent. On observe encore un pic de nutrition nocturne en correspondance avec le grazing. Son importance est secondaire devant le pic diurne qui devient très marqué dans le milieu dépourvu de phytoplancton. Le grazing ne permet pas d'expliquer cette ingestion qui correspondrait donc à des particules d'une autre nature.

Au niveau enzymatique, le pic nocturne de nutrition et le pic d'activité amylasique sont en bonne coïncidence ; l'intensité de l'activation enzymatique correspondante est réduite et atteint le même ordre de grandeur que celle du pic diurne. Les protéases ont des taux d'autant plus importants que les milieux sont dépourvus de phytoplancton. On observe dans le milieu sans apport de nourriture une similitude entre l'ingestion et les taux de protéases.

## **Discussion**

L'analyse protéique de la nutrition nous a conduit à formuler l'hypothèse de la présence de particules nutritives, différentes des cellules végétales, dans les milieux pauvres ou dépourvus de phytoplancton. Il s'agirait, soit des pelotes fécales émises en relation avec la nutrition végétale soit des bactéries ou débris organiques provenant de cadavres ou de mues.

La présence de ces particules est probablement identique dans tous les milieux. Cependant, il y a une orientation sélective du métabolisme digestif selon la nourriture présente. En effet, aux fortes concentrations de nourriture, on constate une forte ingestion nocturne en liaison avec le grazing et une activation de l'amylase. Les taux de protéases restent très bas ; ces enzymes sont donc peu concernées. En l'absence totale de *Tetraselmis*, on observe une ingestion de nourriture correspondant à une activation des protéases. Les taux d'amylase sont à leur tour très faibles.

Les étapes intermédiaires des conditions de nourriture composent un panachage des deux phénomènes. Le pic nocturne de nutrition induirait principalement l'amylase. En effet, à la plus forte valeur d'ingestion de phytoplancton correspond le minimum de protéases. Le pic diurne induirait la synthèse des protéases (milieu sans apport de nourriture) ou des deux catégories d'enzymes, amylase et protéases (milieux nourris).

L'orientation primaire du métabolisme digestif nocturne vers une digestion amylasique peut s'expliquer soit par l'effet activateur de la composition chimique des cellules en amidon, soit par une orientation rationnelle de la digestion vers une source de calories de haut rendement à base glucidique. Dans une telle digestion, les protéines sont peu attaquées et seraient en partie rejetées, produisant des pelotes fécales de forte teneur protéique. Comme nous l'avons vu précédemment, certains taux élevés de nourriture engendrent une nutrition correspondante sans activation supplémentaire des synthèses des enzymes digestives. Dans ce cas, la digestion de l'amidon n'est proba-

blement pas totale. L'ingestion de pelotes fécales ainsi constituées, pourrait provoquer la re-activation des enzymes concernées en fonction de la composition chimique de ces nouvelles particules expliquant ainsi la présence d'un pic diurne de protéases et même d'amylase.

#### *Taille des Artemia et orientation du métabolisme digestif*

Les écarts entre les moyennes des activités spécifiques de l'amylase ou des protéases des trois classes de taille entre elles ne sont pas significatifs (test t). Cependant, la tendance générale montre que l'activité amylasique à l'inverse des protéases est proportionnelle à la taille des *Artemia*.

La détermination du rapport A/P permet d'obtenir une clarification, du phénomène (Fig. 12). Les animaux ont un régime alimentaire d'autant plus diversifié qu'ils sont petits.

Nous avons remarqué, dans l'analyse protéique, que les petites *Artemia* semblent avoir une activité nutritive plus intense que les grandes. La détermination du rapport A/P confirmerait ce fait. En effet, les besoins nutritifs des premiers stades des *Artemia* sont tels que l'apport de phytoplancton de ces élevages est insuffisant pour fournir l'énergie nécessaire à leur croissance. Au cours de cette période, le rendement d'utilisation de la nourriture peut atteindre 60 à 80 % (Reeve, 1963b). La nutrition secondaire et la diversification du régime alimentaire seraient un moyen de pallier leurs besoins.

#### **Bibliographie**

- BEKLEMISHEV, K. M. 1963. Superfluous feeding of marine herbivorous zooplankton. *Rapp. P.-v. Réun. Cons. perm. int. Explor. Mer* 153:108-113.
- BOUCHER, J., A. LAUREC, J. F. SAMAIN, et S. L. SMITH. 1976. Etude de la nutrition, du régime et du rythme alimentaire du zooplancton dans les conditions naturelles, par la mesure des activités enzymatiques digestives. p. 85-110. *In*: Proc. 10th Eur. Symp. mar. Biol., Ostend, Belgium, Sept. 17-23, 1975. Persoone, G., and E. Jaspers (Eds). Universa Press, Wetteren. Vol. 2. 710 p.
- BOUCHER, J., et J. F. SAMAIN. 1974. L'activité amylasique, indice de nutrition du zooplancton : mise en évidence d'un rythme quotidien en zone d'upwelling. *Téthys* 6(1,2):175-188.
- 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. 9th Europ. mar. Biol. Symp., Oban, Scotland Oct. 2-8, 1974. Barnes, H. (Ed.), Aberdeen Univ. Press, Aberdeen. 760 p.
- FLASSCH, J. P., et Y. NORMANT. 1974. Mise en place d'une unité de production d'algues au C.O.B., premiers résultats. *Infmes téc. Inst. Investnes scient.* 14:57-61.
- GAULD, D. T. 1953. Diurnal variation in the grazing of planktonic copepods. *J. mar. biol. Ass. U.K.* 31:461-474.
- GROSSMAN, M. I., H. GREENGARD, and A. C. IVY. 1942. The effect of dietary composition on pancreatic enzymes. *Am. J. Physiol.* 138:676-682.
- JABLONSKI, V. M. 1895. *Archs Sci. biol.*, St. Petersburg. 4:377-383.

*Protéines, amylase, protéases et nutrition chez Artemia salina*

- LEBAS, F., T. CORRING, et D. COURTOT. 1971. Equipement du pancréas exocrine chez le lapin, mise en place et évolution de la naissance au sevrage, relation avec la composition du régime alimentaire. *Annls Biol. anim. Biochim. Biophys.* 11(3):399-414.
- LOWRY, O. M., N. J. ROSENBOUGH, L. FARR, and R. J. RANDALL. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 193:265-275.
- MARCHIS-MOUREN, G., L. PASERO, and P. DESNUELLE. 1963. Further studies on amylase biosynthesis by pancreas of rat fed on a starch-rich or a casein-rich diet. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 13(4):262-266.
- REBOUD, J. P., A. BEN ABDELJLIL, et P. DESNUELLE. 1961. Variations de la teneur en enzymes du pancréas de rat en fonction de la composition des régimes. *Biochim. biophys. Acta* 58:326-337.
- REBOUD, J. P., G. MARCHIS-MOUREN, L. PASERO, A. COZZONE, et P. DESNUELLE. 1965. Adaptation de la vitesse de biosynthèse de l'amylase pancréatique et du chymotrypsinogène A des régimes riches en amidon ou en protéines. *Biochim. biophys. Acta* 117:351-367.
- REEVE, M. R. 1963a. The filter feeding of *Artemia*. I. In pure cultures of plant cells. *J. exp. Biol.* 40:195-205.
- REEVE, M. R. 1963b. Growth efficiency in *Artemia* under laboratory conditions. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole* 125(1):133-145.
- 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.
- STEELE, J. H. 1974. The structure of marine ecosystems. Blackwell Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh. 128 p.
- SUSHCHENYA, L. R. 1962. Quantitative data on the feeding and energy balance of *Artemia salina*. *Dokl. Akad. Nauk SSSR.* 143(5):1205-1207.
- TWOMBLY SNOOK, J., and J. H. MEYER. 1964. Response of digestive enzymes to dietary protein. *J. Nutrit.* 82:408-413.