

Broutage des copépodes planctoniques en laboratoire : effets dus aux incubations.

B. Sautour

Laboratoire d'Océanographie Biologique 2, rue Jolyet 33120 Arcachon (France)

Résumé : L'étude de la nutrition des copépodes planctoniques en milieu néritique côtier est souvent complexe (influence des marées, quantités importantes de matériel particulaire en suspension, richesse spécifique des copépodes élevée). Dans ces conditions, l'étude en laboratoire s'avère être un bon moyen de mise en évidence de l'action de certains facteurs (température, concentration en nourriture...). Cependant les méthodes d'étude en laboratoire entraînent plusieurs artefacts. Parmi ceux-ci interviennent la taille des incubateurs (dilution des produits excrétés par les copépodes, chocs des animaux contre les parois), la qualité nutritionnelle des algues, l'adaptation des copépodes aux conditions expérimentales (stress, jeûne avant les incubations). Une mise en évidence de ces différents artefacts a été réalisée avec quatre espèces dominantes de copépodes planctoniques en zone néritique côtière et différentes espèces d'algues communes dans ce milieu.

Abstract : The study of copepod feeding under natural conditions is often difficult (tidal flows, amount of suspended particulate matter, high copepod diversity). Thus, the influence of parameters such as temperature, light or food concentration, on copepod feeding behaviour are easier to test under laboratory conditions. However, artifacts are introduced during these experiments, due to the size of the incubators, to the nutritional quality of algae, or to the adaptation of copepods to experimental conditions. These main causes of artifacts have been pointed out using four copepod species and different common algal species existing in neritic coastal areas.

INTRODUCTION

Les organismes zooplanctoniques filtreurs s'alimentent principalement à partir du stock phytoplanctonique. Parmi ceux-ci, les copépodes occupent une place très importante et peuvent, en milieu ouvert, exercer une pression de broutage sur le stock algal proche de 100 % (Menzel & Ryther, 1961). Cette prépondérance des copépodes au sein de la chaîne alimentaire marine a suscité de nombreux travaux sur la nutrition de ces organismes, tant en laboratoire que *in situ* (Frost, 1972 ; Baars & Fransz, 1984). Alors que le milieu océanique offre quelques relatives facilités d'étude, le milieu néritique côtier est plus complexe et l'action conjuguée des paramètres biotiques et abiotiques est difficilement appréhendée.

L'étude de la nutrition des copépodes en laboratoire permet d'éviter un certain nombre de problèmes incontournables lors de travaux effectués *in situ*. Cette approche, bien que ne rendant pas compte du comportement naturel des planctontes, permet de mettre en évidence l'action des facteurs naturels simulés en laboratoire. Ainsi, diverses méthodes ont été très largement utilisées afin d'étudier le comportement alimentaire des copépodes en fonction de la concentration algale (Frost, 1972), du type de nourriture (Huntley *et al.*, 1983 ; Price *et al.*, 1983 ; Demott, 1988), de la température (Deason, 1980 ; Kiorboe *et al.*, 1982) ou du stade de développement (Daro, 1985).

Deux types d'expérimentations sont souvent employés :

- le contenu du tractus digestif des organismes peut être mesuré à intervalles réguliers par la méthode fluorimétrique (Mackas & Bohrer, 1976). Cette méthode nécessite la connaissance du taux d'évacuation du tractus digestif des animaux afin de convertir les contenus en valeurs d'ingestion (Mackas & Bohrer, 1976 ; Boyd *et al.*, 1980 ; Dagg & Grill, 1980). De plus, elle nécessite un grand nombre de copépodes (en général 3 lots de 30 à chaque mesure).

- la disparition de cellules algales dans les incubateurs au cours du temps (24 heures) peut aussi être quantifiée. Cette technique permet de mesurer directement les taux d'ingestion sans avoir recours aux taux d'évacuation du tractus digestif. Ce type de manipulation pose néanmoins un certain nombre de problèmes dus aux différentes variables intervenant lors des expériences. Parmi ces dernières, certaines sont facilement contrôlables : température, lumière, volume des incubateurs. D'autres le sont beaucoup moins : stress des planctontes, production algale due à l'excrétion des brouteurs.

Cependant, une mise au point de la méthode d'incubation est nécessaire avant toute mesure d'ingestion : elle a été effectuée avec quatre espèces de copépodes caractéristiques : *Acartia clausi*, *Centropages hamatus*, *Temora longicornis* et *Euterpina acutifrons*.

Quatre causes possibles d'artefact intervenant lors d'estimations de l'ingestion *in vitro* des copépodes ont été envisagées dans ce travail :

- les copépodes ayant subi un jeûne préalable ou provenant du milieu naturel contenant une faible concentration en particules nutritives, se nourrissent immédiatement en présence d'algues (Head, 1988). Afin de faire l'objet d'études comparatives, les expériences de broutage doivent être réalisées à partir d'individus sujets à la même "demande nutritionnelle". Les individus étudiés se nourriront en principe dès leur introduction dans les incubateurs après une période de jeûne préalable. Cette étude du jeûne des copépodes a été réalisée en mesurant les taux d'évacuation du tractus intestinal (mesure de la décroissance de la quantité de pigments chlorophylliens dans le tractus digestif des organismes : Mackas & Bohrer, 1976).

- l'introduction d'organismes brouteurs dans des incubateurs contenant des suspensions algales peut provoquer une perturbation du milieu expérimental (Roman & Rublee, 1980), amenant une appréciation faussée de la nutrition des organismes. Parmi les facteurs qui entrent en jeu : l'excrétion des individus enrichit le milieu d'incubation. Lorsque des algues phytoplanctoniques à forte croissance sont utilisées, la production algale peut conduire à une sous-estimation du broutage. Afin de mettre en évidence ce phénomène, une série d'expériences a été réalisée sur différentes souches algales.

- en milieu artificiel, les pelotes fécales, contenant une certaine quantité de cellules algales non digérées (Bathmann & Liebezeit, 1986), peuvent être ingérées par les copépodes (Weibe, 1983 ; Head, 1988). L'ingestion éventuelle de fèces peut donc entraîner une sous-estimation du broutage en laboratoire.

- enfin, une série d'expériences faites avec des incubateurs de volumes différents a permis de mettre en évidence l'influence du volume des cuves expérimentales sur les estimations de broutage des copépodes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Jeûne des copépodes avant les incubations

Des copépodites IV à VI (*A. clausi*, *C. hamatus*, *T. longicornis*, *E. acutifrons*) ont été adaptés pendant 2 à 3 jours en laboratoire à 19 °C. L'aliment proposé était l'algue *Isochrysis galbana* (prymnésiofycée, retenue du fait de sa bonne ingestion par l'ensemble des copépodes étudiés : Sautour, 1991). Deux heures avant le début de chaque manipulation, les copépodes ont été placés à concentration voisine de 15 ng chl_a + éq.ml⁻¹, à l'obscurité et à 19 °C.

Au temps 0, l'ensemble des planctontes a été récolté avec précaution, rincé et placé par lots de 5 dans des cuves contenant 25 ml d'eau de mer filtrée. De t = 0, à t = 160 min, 3 lots de 5 copépodes ont été prélevés toutes les 10, 15 ou 20 min. Les 5 individus de chaque cuve ont été pipettés avec précaution, plongés dans 5 ml d'acétone à 90 % et broyés pour extraire les pigments (2 heures à 4 °C et à l'obscurité). Après centrifugation, la lecture de la fluorescence du surnageant a été faite avant (F₀) et après acidification (F_a). Les équations de Strickland & Parsons (1972), légèrement modifiées, ont été utilisées pour calculer les quantités moyennes de pigments chlorophylliens contenues dans chaque copépode :

$$\text{chlorophylle } a \text{ (ng.Cop}^{-1}\text{)} = K(F_0 - F_a)/n$$

$$\text{phéopigments (ng.Cop}^{-1}\text{)} = K(rF_a - F_0)/n$$

K est la constante de calibration du fluorimètre, r le coefficient d'acidification et n le nombre de copépodes. Les quantités totales de pigments (G) contenues dans le tractus intestinal d'un copépode ont été obtenues en sommant les quantités de chlorophylle a et de phéopigments et sont exprimées en (ng chl_a + éq.Cop⁻¹).

Un modèle exponentiel négatif est classiquement retenu pour décrire l'évacuation du tractus digestif (Mackas & Bohrer, 1976 ; Dagg & Grill, 1980 ; Baars & Fransz, 1984 ; Kiorbe *et al.*, 1985 ; Kleppel *et al.*, 1985 ; Wang & Conover, 1986 ; Bautista *et al.*, 1988) :

$$G_t = G_0 e^{-Rt}$$

(G₀ et G_t = quantités de pigments aux temps 0 et t ; R = taux d'évacuation (min⁻¹) du tractus intestinal). Les taux d'évacuation ont été calculés d'après les modèles déterminés.

Excrétion : expérience préliminaire

Les variations de concentration algale dans des incubateurs témoins et dans des incubateurs contenant des copépodes ont été mesurées en fonction du temps. Deux types de mesures ont été réalisés, l'un évaluant des concentrations en chlorophylle a (Fluorimètre), l'autre des quantités de particules (Coulter Counter).

- première série d'expériences : 7 algues ont été utilisées : *Isochrysis galbana*, + 6 diatomées de tailles différentes : *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros minus*, *Chaetoceros calcitrans forma pumilum*, *Chaetoceros gracilis* (par ordre de taille croissante), *Skeletonema costatum* et *Thalassiosira pseudonana* (diatomées en chaîne). Deux espèces de copépodes, maintenues en élevage, ont été employées : *Euterpina acutifrons* et *Centropages hamatus*.

Pour chaque algue, 10 copépodes ont été placés dans des cuves contenant 25 ml de suspension algale (concentration variant entre 35 et 95 ng chl_a + éq.ml⁻¹). Un réplicat et un

témoin ont été préparés à chaque fois, placés à 19 °C et à l'obscurité sur une table agitante. Les concentrations en chlorophylle *a* ont été mesurées avec un fluorimètre Turner modèle 112 aux temps $t = 0$ h, 12 h, 24 h, 48 h et 60 heures. Pour chaque mesure, un volume donné de suspension algale a été prélevé et filtré sur Whatman GF/C (0,45 μm). L'extraction des pigments a été réalisée pendant deux heures (4 °C et à l'obscurité) après dilacération du filtre. Après centrifugation, la lecture des fluorescences du surnageant a été effectuée avant et après acidification. Les équations de Lorenzen (1966) ont été utilisées pour convertir les fluorescences en poids de pigments chlorophylliens par unité de volume. Les concentrations algales sont exprimées en ng de pigments chlorophylliens.ml⁻¹ (chlorophylle *a* + phéopigments.ml⁻¹ = chl_a + éq.ml⁻¹). Un coefficient de 1,51 a été utilisé pour convertir les quantités de phéopigments en équivalents chlorophylle *a* (Lorenzen, 1966).

- *deuxième série de manipulations* : les expériences ont été effectuées avec le copépode *Euterpina acutifrons* et l'algue *Isochrysis galbana*, utilisée à des concentrations nettement plus faibles que dans le premier cas : 10 cellules ml⁻¹, 50 cellules ml⁻¹ et 100 cellules ml⁻¹ (= 0,16 ng chl_a + éq.ml⁻¹). Vingt cinq copépodes ont été placés dans des incubateurs contenant 100 ml des différentes suspensions algales, un réplicat et un témoin ont été préparés à chaque fois, placés à 19 °C et à l'obscurité sur une table agitante. Le nombre de cellules algales a été déterminé aux temps $t = 0$ h, 12 h, 24 h, 36 heures avec un Coulter Counter C 1 000.

Quantification et simulation de la production algale due à l'excrétion des copépodes

Une solution simulant l'excrétion en azote et phosphore de 7 copépodes pendant 24 heures a été préparée à partir de données issues de la littérature (Tabl. I). Afin de ne pas modifier la concentration algale initiale, un faible volume (100 μl) de cette solution a été ajouté aux cuves expérimentales. Un copépode rejette en moyenne $35,24 \times 10^{-4}$ μg de phosphore.h⁻¹. et $23,09 \times 10^{-3}$ μg d'azote ammoniacal.h⁻¹. La solution a été préparée en tenant compte de ces valeurs à partir de NaNO₃ et de NaH₂PO₄.

Afin de mettre en évidence l'effet de cette solution sur les souches algales utilisées, 100 μl de solution ont été ajoutés dans des cuves contenant 25 ml de suspension algale (3 algues ont été utilisées : *I. galbana*, *C. calcitrans* et *S. costatum*). Les concentrations algales ont été mesurées grâce à un fluorimètre en début d'expérimentation et après 24 heures passées à 19 °C et à l'obscurité sur une table agitante. Le pourcentage d'augmentation de concentration en pigments chlorophylliens a été calculé pour chaque cuve et pour chaque algue.

Ingestion de pelotes fécales

Lors des expériences d'évacuation de tractus intestinal, les pelotes fécales ont été comptées et leur teneur en pigments chlorophylliens mesurée en fluorimétrie. Ces mesures ont été effectuées pour deux espèces de copépodes faisant partie des deux grands ordres de copépodes planctoniques marins : *E. acutifrons* représentant les Harpacticoïdes et *T. longicornis* représentant les Calanoïdes (deux ordres présentant notamment des différences morphologiques et comportementales importantes).

TABLEAU I

Excrétion en azote ammoniacal et phosphate, de différentes espèces de Copépodes
(données de la littérature exprimées en $\mu\text{g N}$ ou $\text{P ind}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$).

Copépodes	Excrétion N	Excrétion P	Source
<i>Acartia clausi</i>	$28,00 \cdot 10^{-3}$		Mayzaud, 1973a
	$47,00 \cdot 10^{-3}$		Mayzaud 1973b
	$2,87 \cdot 10^{-3}$		Nival <i>et al.</i> , 1974
<i>Acartia australis</i>	$5,38 \cdot 10^{-3}$	$19,00 \cdot 10^{-4}$	Ikeda & Skjoldal, 1980
<i>Acartia tonsa</i>	$1,00 \cdot 10^{-3}$		Roman & Rublee, 1980
<i>Calanus helgolandicus</i>		$1,92 \cdot 10^{-4}$	Hargrave & Geen, 1968
	$29,00 \cdot 10^{-3}$		Corner <i>et al.</i> , 1965
	$76,50 \cdot 10^{-3}$	$137,50 \cdot 10^{-4}$	Butler <i>et al.</i> , 1969
	$33,96 \cdot 10^{-3}$	$71,00 \cdot 10^{-4}$	Butler <i>et al.</i> , 1970
<i>Centropages</i> sp	$36,88 \cdot 10^{-3}$		Nival <i>et al.</i> , 1974
	$17,08 \cdot 10^{-3}$		Nival <i>et al.</i> , 1974
<i>Paracalanus parvus</i>	$1,82 \cdot 10^{-3}$	$4,81 \cdot 10^{-4}$	Ikeda, 1977
<i>Pseudocalanus minutus</i>		$8,73 \cdot 10^{-4}$	Hargrave & Geen, 1968
<i>Temora stylifera</i>	$18,68 \cdot 10^{-3}$		Nival <i>et al.</i> , 1974
Petits Copépodes	$1,94 \cdot 10^{-3}$	$3,75 \cdot 10^{-4}$	Butler <i>et al.</i> , 1969

Volume utile par copépode

Quatre volumes ont été choisis : 25, 100, 250 et 500 ml. Pour chaque volume, 8 cuves ont été utilisées : 4 témoins (sans copépodes) et 4 auxquelles ont été ajoutés 7 copépodes. La concentration algale connue au départ, était identique dans toutes les cuves. Le tout a été placé sur une table agitante, à l'obscurité pendant 24 heures, une mesure des concentrations algales (fluorimétrie) étant faite en fin d'incubation dans les différents incubateurs.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Jeûne des brouteurs avant incubation

La quantité de pigment en début de jeûne est très variable d'une espèce à l'autre (*T. longicornis* : $4,27 \text{ ng chl}a + \text{éq.Cop}^{-1}$; *E. acutifrons* : $0,12 \text{ ng chl}a + \text{éq.Cop}^{-1}$). Ces variations sont imputables à différents facteurs : (i) la taille des organismes : la quantité de pigments ingérés est proportionnelle à la taille, (ii) la période de l'année à laquelle est effectuée la manipulation : la taille de ces planctontes varie au cours du cycle annuel, (iii) la capacité des différentes espèces à ingérer la nourriture qui leur est proposée (*I. galbana*). Les résultats ont donc été exprimés en pourcentage du contenu initial afin d'homogénéiser les valeurs (Fig. 1).

La décroissance du taux de pigments chlorophylliens dans le tractus digestif des copépodes est exponentielle quelle que soit l'espèce considérée (logiciel STAT-ITCF) et les temps d'évacuation sont très variables d'une espèce à l'autre (Tabl. II).

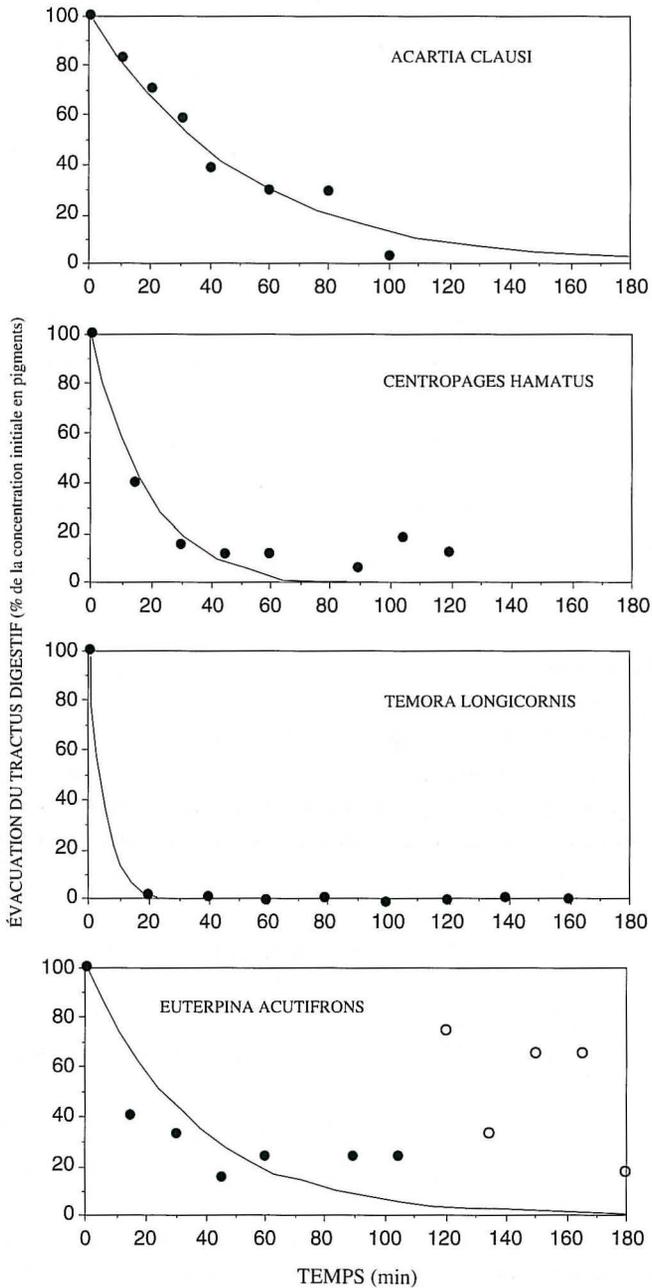


Fig. 1 : Évacuation du tractus digestif de 4 espèces de copépodes préalablement nourris avec *Isochrysis galbana* (1 point = moyenne de 3 manipulations). *E. acutifrons* : seuls les points noirs ont été pris en compte dans le modèle, points blancs = ingestion de pelotes fécales.

TABLEAU II

Calcul des taux d'évacuation du tractus intestinal de 4 espèces de copépodes. Expériences menées à 19°C et copépodes préalablement nourris avec *Isochrysis galbana*.

Espèce	Modèle	Taux d'évacuation min-1
<i>Acartia clausi</i>	$G_t = 4,22 e^{-0,02t}$ ($r = 0,91$, $n = 24$, $p = 0.005$)	7.02
<i>Centropages hamatus</i>	$G_t = 0,32 e^{-0,05t}$ ($r = 0,91$, $n = 24$, $p = 0.005$)	0.05
<i>Euterpina acutifrons</i>	$G_t = 0,10 e^{-0,03t}$ ($r = 0,70$, $n = 21$, $p = 0.005$)	0.03
<i>Temora longicornis</i>	$G_t = 4,27 e^{-0,17t}$ ($r = 0,96$, $n = 27$, $p = 0.005$)	0.17

Les variations intra et interspécifiques des taux d'évacuation peuvent être attribuées à différents facteurs :

- un stress des planctontes qui peuvent présenter des taux d'évacuation anormalement élevés après avoir été manipulés (Head, 1988),
- une rétention de pelotes fécales intervenant lorsque les copépodes sont placés dans un milieu appauvri (Baars & Oosterhuis, 1984 ; Simard *et al.*, 1985 ; Dagg & Walser, 1987),
- enfin la biologie des espèces étudiées qui peuvent avoir des temps d'évacuation très variables (Tabl. III) et qui, confrontées à des paramètres identiques, peuvent réagir de manière différentes (action plus ou moins sensible de la température ou qualité de l'algue offerte).

Les résultats indiquent donc des taux d'évacuation à 19 °C pour des copépodes préalablement nourris avec *Isochrysis galbana* à peu près identiques pour *A. clausi*, *C. hamatus* et *E. acutifrons* et se rapprochant des valeurs habituellement trouvées (Tabl. III). Les valeurs obtenues pour *T. longicornis* sont sensiblement supérieures à celles indiquées par Wang et Conover (1986). Ceci peut en partie s'expliquer par les différences de température lors des manipulations, sans toutefois exclure un stress éventuel des individus utilisés.

Les concentrations en pigments chlorophylliens dans le tractus digestif obtenues après 1 h 30 atteignent un plateau. Classiquement elles sont attribuées à des fluorescences parasites dues aux tissus des individus (Boyd *et al.*, 1980 ; Dagg & Grill, 1980 ; Dagg & Wyman, 1983 ; Pagano & Saint-Jean, 1985 ; Simard *et al.*, 1985). Cependant des teneurs en pigments identiques, voire même inférieures, peuvent être trouvées sur des copépodes provenant du milieu naturel et ayant des tractus non vides (Sautour, 1991). Ces fluorescences parasites sont donc probablement dues aussi à des cellules algales restées coincées dans les appendices des individus ou adhérentes à la carapace (Baars & Oosterhuis, 1984).

Excrétion : expérience préliminaire

Première série d'expériences (Fig. 2) : après une diminution de la teneur en pigments chlorophylliens dans les cuves contenant les copépodes, la concentration algale augmente à partir de 12 à 24 heures. Dans les cas extrêmes, les valeurs obtenues dans les cuves avec copépodes sont supérieures à celles des témoins.

TABLEAU III

Comparaison des taux d'évacuation du tractus intestinal mesurés chez différentes espèces de copépodes.

Copépodes	Taux d'évacuation (min ⁻¹)	Conditions	Références
Copépodes	0,041 0,008 0,041 0,041 0,008	nuit jour 7 (mai) 17 (sept.) 15 (juillet)	Baars & Oosterhuis, 1974
<i>Eurytemora herdmanni</i>	0,012	—	Mackas & Bohrer, 1976
Copépodes tropicaux	0,008 0,033	—	Araskevich, 1977
<i>Acartia clausi</i>	0,040	13 °C	Hargis, 1977
<i>Pseudocalanus</i> sp	0,033 0,050	20 °C	Corkett & Mc Laren, 1978
<i>Centropages typicus</i>	0,011		Dagg & Grill, 1980
<i>Centropages hamatus</i>	0,006 0,011 0,022 0,040	1 °C 5 °C 10 °C 15 °C	Kiorboe <i>et al.</i> , 1982
<i>Calanus finmarchicus</i> <i>Temora longicornis</i> <i>Pseudocalanus</i> sp <i>Centropages hamatus</i>	0,022		Kiorboe <i>et al.</i> , 1985
<i>Calanus finmarchicus</i>	0,021		Simard <i>et al.</i> , 1985
<i>Temora longicornis</i>	0,017 0,021 0,009 0,016	5 °C concentration faible concentration forte 10 °C concentration faible concentration forte	Wang & Conover, 1986
<i>Acartia</i> spp.	0,086		Huntley <i>et al.</i> , 1987
<i>Acartia tonsa</i>	0,037		Kiorboe & Tiselius, 1987
<i>Acartia grani</i>	0,016 0,015 0,018	mâles femelles population totale	Bautista <i>et al.</i> , 1988
<i>Centropages typicus</i>	0,071		Saiz <i>et al.</i> , 1992

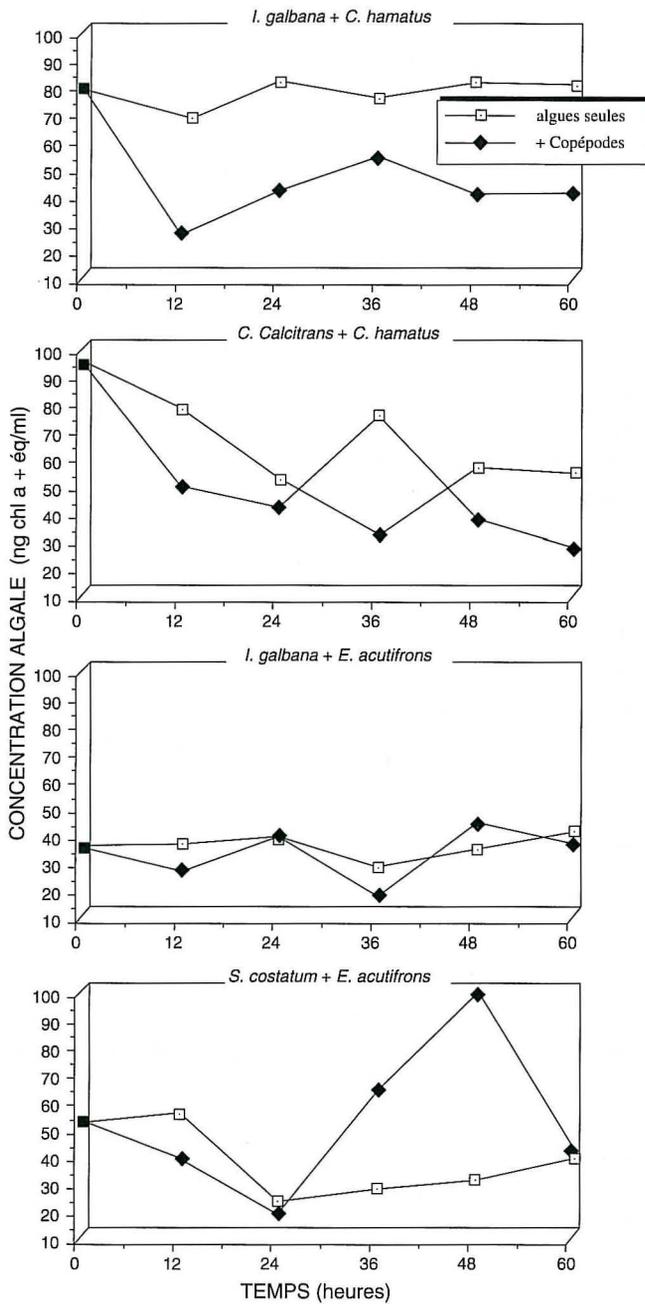


Fig. 2 : Évolution des concentrations algales (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* et *Skeletonema costatum*) dans des incubateurs (25 ml) contenant des copépodes (*Centropages hamatus* et *Euterpina acutifrons*) et dans des témoins (algues seules).

Seconde série d'expériences (Fig. 3) : Le nombre de cellules algales diminue dans les bacs expérimentaux et reste constant dans les témoins pendant les 24 premières heures. À 36 heures le nombre de cellules comptées dans les cuves contenant les copépodes dépasse celui des témoins.

Dans les deux cas (fortes et faibles concentrations algales) il y a une production d'algues dans les cuves contenant les copépodes. Le broutage des copépodes bien que visible à certains moments, est donc le plus souvent masqué. La synthèse de pigments chlorophylliens à l'obscurité est un phénomène connu (Roman & Rublee 1980 ; Kiorboe & Tiselius, 1987). Cette augmentation finale de la concentration algale, qui se traduit par une baisse apparente des taux d'ingestion des copépodes est, pour Hargrave & Geen (1970), plutôt un artefact qu'une variation du comportement alimentaire des planctontes.

Les copépodes excrètent des composés azotés et phosphorés (Nival *et al.*, 1974 ; Roman & Rublee, 1980 ; Landry & Lehner-Fournier, 1988) dans les incubateurs, ce qui favorise un développement algal. Du fait de cette production, le calcul du taux de broutage (correspondant à la différence de concentration algale entre le bac témoin et le bac expérimental) se trouve faussé.

Afin de tenir compte de cette production, des nutriments en excès (Donaghay & Small, 1979 ; Bartram, 1980 ; Kiorboe & Tiselius, 1987) peuvent être ajoutés dans les cuves contenant les copépodes et dans les témoins ; la production due à l'excrétion peut ainsi être masquée. Toutefois une approche plus précise peut être effectuée en tenant compte de la quantité effectivement excrétée. Si l'on ajoute dans les témoins les quantités d'azote et de phosphore excrétées par les copépodes, il y a concordance entre les valeurs mesurées et le phénomène à prendre en compte.

Production algale due à l'excrétion des copépodes

Les pourcentages d'augmentation de production algale sont très variables d'une espèce à l'autre (*I. galbana* : 7 % \pm 1, *C. calcitrans* : 24 % \pm 4, *S. costatum* : 61 % \pm 7) et entre les expériences.

Une estimation de production peut donc être faite pour chaque algue utilisée et les données de broutage corrigées *à posteriori* pour chaque incubation. Cependant la production varie beaucoup d'une incubation à l'autre et cette méthode amènerait des erreurs dans le calcul des taux de broutage aussi bien dans le sens d'une sous-estimation que dans le sens d'une sur-estimation.

Il est donc préférable d'ajouter en début d'incubation dans chaque témoin l'équivalent de ce qui est excrété par les copépodes en 24 heures dans les bacs expérimentaux et, en fin de manipulation, de faire la différence [cuve témoin]-[cuve expérimentale] pour apprécier la part prélevée par les brouteurs.

Pelotes fécales (Fig. 4)

Le cas le plus simple est représenté par *T. longicornis*. Le nombre de pelotes fécales augmente rapidement dans les 40 premières minutes et atteint un palier. Les fèces sont émises par les copépodes dès le début de l'expérience et ne sont pas ingérées par la suite. La quan-

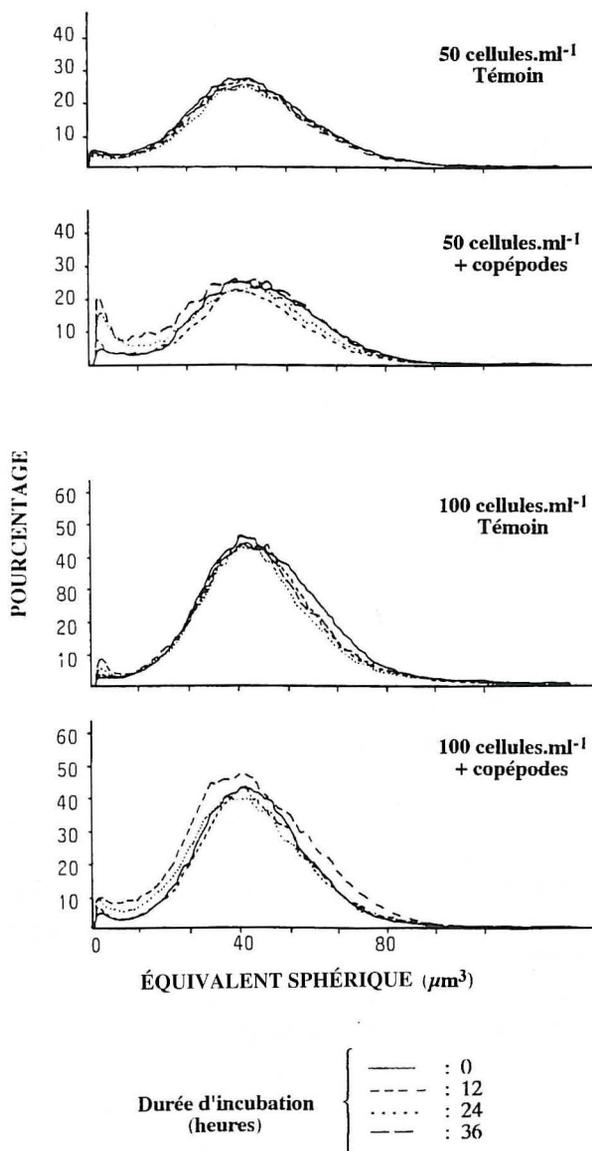


Fig. 3 : Évolution des populations algales (*Isochrysis galbana*) au cours du temps dans des incubateurs de 100 ml contenant 25 *Euterpina acutifrons* chacun.

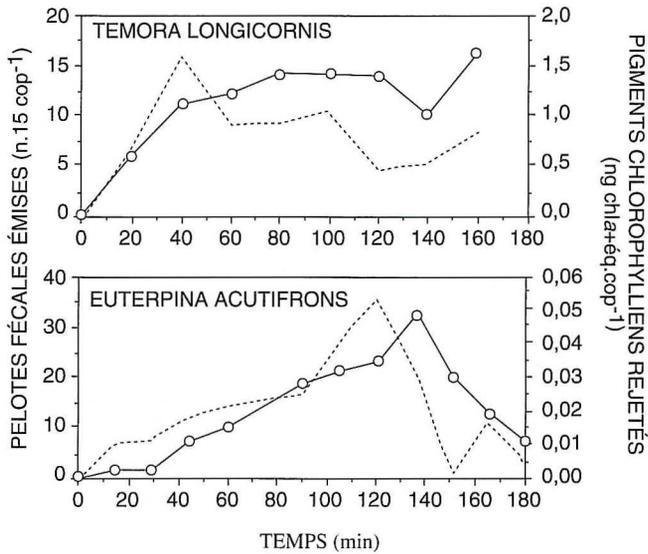


Fig. 4 : Nombre de pelotes fécales émises durant les expériences d'évacuation du tractus digestif (rapporté à 15 copépodes ; trait plein) et quantité de pigments chlorophylliens rejetée correspondante (ramenée à un individu, ng chla + éq ; trait pointillé).

tité de pigments chlorophylliens rejetée varie de façon similaire, néanmoins une détérioration des pigments conduit à une légère diminution en fin d'expérience.

En revanche, dans le cas de *E. acutifrons*, le problème est posé par le contenu du tractus intestinal entre 120 et 165 minutes : les valeurs mesurées sont supérieures à celles du seuil représentant un tractus vide. La seule source de chlorophylle se trouve dans les pelotes fécales; celles-ci ont donc été réutilisées par les copépodes. Or, le nombre de pelotes fécales émises augmente de façon constante jusqu'à 140 minutes, de même que la quantité de pigments chlorophylliens rejetée, puis ces deux variables chutent.

T. longicornis nage de manière à peu près constante en pleine eau lorsqu'il se trouve dans les incubateurs. Il est donc moins facilement porté à ingérer les pelotes fécales qu'il a émises et qui reposent sur le fond. *E. acutifrons*, en revanche, est un copépode, capable de nager en pleine eau, mais se trouve aussi souvent sur le fond. Il est donc rapidement amené à trouver de manière simplement aléatoire la seule source de pigments chlorophylliens disponible dans les bacs.

Cette ingestion de pelotes fécales est à rapprocher de l'ingestion de détritus par les copépodes, mise en évidence depuis longtemps (Poulet, 1976, Roman, 1977 ; Heinle *et al.*, 1977).

Volume utile par copépode

Il n'existe pas d'effet du volume des cuves sur les concentrations algales mesurées dans les bacs témoins après 24 heures (Analyse de variance à un facteur de classification). Par contre, un effet du volume est observé dans les bacs contenant les copépodes ($p = 0,015$) : cet effet n'est significatif que pour les cuves de 500 ml dans lesquelles les concentrations algales sont significativement différentes de celles mesurées dans les 3 autres volumes après 24 heures. D'autre part, la baisse de concentration algale entre témoins et bacs contenant les copépodes n'est significative ($p = 0,013$, *test t*) que dans les cuves contenant le plus grand volume de milieu (500 ml, Tabl. IV). Pour un nombre constant de copépodes, l'estimation du broutage faite à partir des petits volumes est nettement sous-estimée par rapport à celle effectuée sur de plus grands volumes expérimentaux. Un phénomène identique a déjà été mis en évidence par Demott & Watson (1991). Cette sous-estimation du broutage associée aux faibles volumes des incubateurs est due à différentes raisons : (i) lorsque de petits volumes sont utilisés, le volume d'eau "disponible" pour chaque copépode est réduit ce qui peut amener à une refiltration de la même eau (Hargrave & Geen, 1970) (ii) les copépodes stoppent leur activité nutritionnelle dès qu'ils rencontrent un obstacle ; des cuves expérimentales trop petites provoquent une augmentation de la probabilité de chocs et de ce fait une sous-estimation du broutage (iii) des volumes expérimentaux trop faibles accentuent la concentration relative en azote ammoniacal et en phosphates rejetés par les brou-teurs.

TABLEAU IV

Influence du volume de l'incubateur sur les concentrations algales (\pm écart type) mesurées après 24 heures dans des incubateurs témoins et dans des incubateurs contenant 7 copépodes.

Volume incubateur (ml)	Concentration algale incubateur témoin (ng chl <i>a</i> + éq.ml ⁻¹)	Concentration algale test (ng chl <i>a</i> + éq.ml ⁻¹)
25	120,61 \pm 18,44	102,06 \pm 3,72
100	106,82 \pm 15,59	111,29 \pm 9,23
250	117,49 \pm 33,83	108,11 \pm 9,67
500	120,70 \pm 10,10	87,33 \pm 8,47

CONCLUSIONS

De nombreux facteurs interviennent sur l'activité nutritionnelle des copépodes. Ceux-ci peuvent être globalement classés en deux catégories : (i) ceux liés aux conditions expérimentales : température, lumière, volume des incubateurs (ii) ceux liés aux organismes : comportement, régime alimentaire, physiologie. Afin d'obtenir des résultats reproductibles, il est donc nécessaire d'éliminer ces différents artefacts potentiels ou tout du moins de fixer, dans la mesure du possible, les conditions expérimentales.

Dans la première catégorie de facteurs, l'action de la température (Deason, 1980 ; Kiorboe *et al.*, 1982) et les effets des variations d'intensité lumineuse (Cowles & Strickler, 1983 ; Head, 1986) sur les taux d'ingestion des copépodes ont, par exemple, été souvent étudiés. L'effet du volume des incubateurs et la notion de volume disponible par individu ont été mis en évidence par Hargrave & Geen (1970). D'après les résultats obtenus dans cette étude l'estimation des taux d'ingestion n'est possible qu'avec des incubateurs contenant un volume au moins égal à 500 ml et 7 copépodes (un grand volume provoque en outre une dilution des produits excrétés par les copépodes donc une moins forte production phytoplanctonique).

Selon l'espèce étudiée il peut y avoir des différences comportementales pouvant amener à la réutilisation des pelotes fécales. Il est donc nécessaire d'utiliser un moyen pour éviter l'ingestion des fèces (tamis placés sur le fond des incubateurs permettant la sédimentation des fèces et les mettant hors de portée des copépodes).

Parmi les facteurs liés au régime alimentaire des copépodes deux sont essentiels : la qualité nutritionnelle des algues et la notion d'antécédents alimentaires. Une sélection qualitative des algues par les copépodes a été démontrée dans de nombreux travaux (Urry, 1965 ; Paffenhöfer & Strickland, 1970 ; Huntley *et al.*, 1983 ; Price *et al.*, 1983 ; Sautour & Castel, 1993a). Ce type de nutrition, basé sur la détection biochimique des aliments, bien qu'il ne soit sans doute pas le seul (Sautour & Castel, 1993b), a été envisagé grâce à la présence possible de chémorécepteurs chez les copépodes (Cowles & Strickler, 1983 ; Price *et al.*, 1983). La nutrition des copépodes s'effectuant donc en partie de manière qualitative, il est nécessaire, si une étude comparative est faite, d'utiliser des algues de même âge, en évitant d'employer des cultures vieillissantes (Mullin, 1963). Par ailleurs, les copépodes se nourrissent *in situ* à partir des algues disponibles. Malgré des tailles préférentielles pour chaque espèce, ces planctons herbivores peuvent changer de gamme en cas de besoin (Gamble, 1978) ; cependant, leur efficacité est moins bonne pendant un temps d'adaptation. Leur activité de broutage au cours des expérimentations peut donc être modifiée si ceux-ci sont nourris avec des algues différentes avant et pendant les incubations (Price & Paffenhöfer, 1954 ; Head, 1988 ; Huntley, 1988). D'un autre côté, des copépodes issus d'un milieu pauvre en nourriture peuvent atteindre des taux d'ingestion plus importants que ceux observés dans la nature (Head, 1988). Il est donc préférable d'adapter les copépodes aux conditions expérimentales en les nourrissant avec les algues utilisées lors des incubations et à des concentrations proches de celles prévues lors des expérimentations pendant une période d'au moins 24 heures (Duval & Geen, 1976 ; Schnack, 1979 ; Peterson *et al.*, 1990) avant le début des manipulations (cette période d'adaptation aura de plus l'avantage de réduire l'état de stress des copépodes provoqué par la capture : période après laquelle leur activité physiologique diminue (Ikeda & Skjoldal, 1980) et leur activité nutritionnelle est stoppée au moins une heure : Head, 1988). De plus, afin de travailler *in vitro* avec des copépodes capables de se nourrir immédiatement lors de leur passage dans un milieu contenant des algues, il est nécessaire de les laisser jeûner (Head & Harris, 1987 ; Kiorboe & Tiselius, 1987). La durée de jeûne peut être fixée à deux heures afin de prévenir des taux d'évacuation faibles, analogues à ceux observés chez *Acartia clausi*.

Enfin, concernant les facteurs liés à la physiologie des copépodes, l'excrétion joue un rôle important. Une quantité de produits excrétés identique à la quantité effectivement excrétée par les organismes dans les incubateurs, doit être ajoutée aux témoins en début d'incubation afin de masquer la production algale due aux copépodes.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ARASHKEVICH, Y.G., 1977. Duration of food digestion in marine copepods. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 24 : 431-438.
- BAARS, M.A. & H.G. FRANSZ, 1984. Grazing pressure of copepods on the phytoplankton stock of the central North Sea. *Neth. J. Sea Res.*, 18 : 120-142.
- BAARS, M.A. & S.S. OOSTERHUIS, 1984. Diurnal feeding rhythms in North sea copepods measured by gut fluorescence, digestive enzyme activity and grazing on labelled food. *Neth. J. Sea Res.*, 18 : 97-119.
- BARTRAM, W.C., 1980. Experimental development of a model for the feeding of neritic copepods on phytoplankton. *J. Plankton Res.*, 3 : 25-51.
- BATHMANN, U. & G. LIEBEZEIT, 1986. Chlorophyll in copepod faecal pellets : changes in pellet numbers and pigment content during a declining baltic spring bloom. *Mar. Ecol.*, 7 (1) : 59-73.
- BAUTISTA, B., V. RODRIGUEZ & F. JIMENEZ, 1988. Short-term feeding rates of *Acartia grani* in natural conditions : diurnal variation. *J. Plankton Res.*, 10 : 907-920.
- BOYD, C.M., S.L. SMITH & T.J. COWLES, 1980. Grazing patterns of copepods in the upwelling system off Peru. *Limnol. Oceanogr.*, 25 : 583-596.
- BUTLER, E.I., E.D.S. CORNER & S.M. MARSHALL, 1969. On the nutrition and metabolism of zooplankton. VI. Feeding efficiency of *Calanus* in terms of nitrogen and phosphorus. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 49 (4) : 977-1001.
- BUTLER, E.I., E.D.S. CORNER & S.M. MARSHALL, 1970. On the nutrition and metabolism of zooplankton. VII. Seasonal survey of nitrogen and phosphorus excretion by *Calanus* in the Clyde Sea-area. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 50 (2) : 525-560.
- CORKETT, C.J. & J.A. Mc LAREN, 1978. The Biologie of *Pseudocalanus*. *Adv. Mar. Biol.*, 15 : 1-231.
- CORNER, E.D.S., C.B. COWEY & S.M. MARSHALL, 1965. On the nutrition and metabolism of zooplankton. III. Nitrogen excretion by *Calanus*. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 45 (2) : 425-442.
- COWLES, T.J. & J.R. STRICKLER, 1983. Characterization of feeding activity patterns in the planktonic copepod *Centropages typicus* Kroyer under various food conditions. *Limnol. Oceanogr.*, 28 (1) : 106-115.
- DAGG, M.J. & D.W. GRILL, 1980. Natural feeding rates of *Centropages typicus* females in the New York Bight. *Limnol. Oceanogr.*, 25 (4) : 597-609.
- DAGG, M.J. & Jr W.E. WALSER, 1987. Ingestion, gut passage, and egestion by the copepod *Neocalanus plumchrus* in the laboratory and in the subarctic Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 32 (1) : 178-188.
- DAGG, M.J. & K.D. WYMAN, 1983. Natural ingestion rates of the copepods *Neocalanus plumchrus* and *N. cristatus* calculated from gut contents. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 13 : 37-46.
- DARO, M.H., 1985. Field study of the diel, selective and efficiency feeding of the marine copepod *Temora longicornis* in the Southern Bight of the North Sea. "Proceeding Progress in Belgian Oceanographic Research" Brussels, pp. 250-263.
- DEASON, E.E., 1980. Grazing of *Acartia hudsonica* on *Skeletonema costatum* in Narragansett Bay (USA) : influence of food concentration and temperature. *Mar. Biol.*, 60 : 101-113.
- DEMOTT, W.R., 1988. Discrimination between algae and artificial particles by freshwater and marine copepods. *Limnol. Oceanogr.*, 33 : 397-408.
- DEMOTT, W.R. & M.D. WATSON, 1991. Remote detection of algae by copepods : responses to algal size, odors and motility. *J. Plankton Res.*, 13 (6) : 1 203-1 222.
- DONAGHAY P.L. & L.F. SMALL, 1979. Food selection capabilities of the estuarine copepod *Acartia clausi*. *Mar. Biol.*, 52 : 137-146.
- DUVAL, W.S. & G.H. GEEN, 1976. Diel feeding and respiration rhythms in zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 21 (6) : 823-829.
- FROST, B.W., 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnol. Oceanogr.*, 17 : 805-815.
- GAMBLE, J.C., 1978. Copepod grazing during a declining spring phytoplankton bloom on the northern North Sea. *Mar. Biol.*, 49 : 303-315.

- HARGIS, J.R., 1977. Comparisons of techniques for the measurement of zooplankton filtration rates. *Limnol. Oceanogr.*, 22 : 942-945.
- HARGRAVE, B.T. & G.H. GREEN, 1968. Phosphorus excretion by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 13 (2) : 332-342.
- HARGRAVE, B.T. & G.H. GREEN, 1970. Effects of Copepod grazing on two natural phytoplankton populations. *J. Fish Res. Bd Can.*, 27 (8) : 1 395-1 403.
- HEAD, E.J.H., 1986. Estimation of Arctic copepod grazing rates *in vivo* and comparison with *in vitro* methods. *Mar. Biol.*, 92 : 371-379.
- HEAD, E.J.H., 1988. Copepod feeding behavior and the measurement of grazing rates *in vivo* and *in vitro*. *Hydrobiologia*, 167/168 : 31-41.
- HEAD, E. & L.R. HARRIS, 1987. Copepod feeding patterns before and during a spring bloom in Bedford Basin, Nova Scotia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 40 : 221-230.
- HEINLE, D.R., R.P. HARRIS, J.F. USTACH & D.A. FLEMER, 1977. Detritus as food for estuarine copepods. *Mar. Biol.*, 40 : 341-353.
- HUNTLEY, M., 1988. Feeding biology of *Calanus* : a new perspective. *Hydrobiologia*, 167-168 : 83-99.
- HUNTLEY, M.E., K.G. BARTHEL & J.L. STAR, 1983. Particle rejection by *Calanus pacificus* : discrimination between similarly sized particles. *Mar. Biol.*, 74 : 131-160.
- HUNTLEY, M.E., V. MARIN & F. ESCRITOR, 1987. Zooplankton grazers as transformers of ocean optics : A dynamic model. *J. Mar. Res.*, 45 : 911-945.
- IKEDA, T., 1977. The effect of laboratory conditions on the extrapolation of experimental measurements to the ecology of marine zooplankton. IV. Changes in respiration and excretion rates of boreal zooplankton species maintained under fed and starved conditions. *Mar. Biol.*, 41 : 241-252.
- IKEDA, T. & H.R. SKJOLDAL, 1980. The effect of laboratory conditions on the extrapolation of experimental measurements to the ecology of marine zooplankton. *Mar. Biol.*, 58 : 285-293.
- KJORBOE, T., F. MÖHLENBERG & H. NICOLAISEN, 1982. Ingestion rate and gut clearance in the planktonic copepod *Centropages hamatus* (Lilljeborg) in relation to food concentration and temperature. *Ophelia*, 21 : 181-194.
- KJORBOE, T., F. MÖHLENBERG & H.U. RIISGARD, 1985. *In situ* feeding rates of planktonic copepods : a comparison of four methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 88 : 67-81.
- KJORBOE, T. & P.T. TISELIUS, 1987. Gut clearance and pigment destruction in a herbivorous copepod, *Acartia tonsa*, and the determination of *in situ* grazing rate. *J. Plankton Res.*, 9 (3) : 525-534.
- KLEPPEL, G.S., L. WILLBANKS & R.E. PIEPER, 1985. Diel variation in body carotenoid content and feeding activity in marine assemblages. *J. Plankton Res.*, 7 (4) : 569-580.
- LANDRY, M.R., J.-M. LEHNER-FOURNIER, 1988. Grazing rates and behaviors of *Neocalanus plumchrus* : implications for phytoplankton control in the subarctic Pacific. *Hydrobiologia*, 167/168 : 9-19.
- LORENZEN, C. J., 1966. A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentration. *Deep Sea Res.*, 13 : 223-227.
- MACKAS, D. & R. BOHRER, 1976. Fluorescence analysis of zooplankton gut contents and an investigation of diel feeding patterns. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 25 : 77-85.
- MAYZAUD, P., 1973a. Respiration and Nitrogen excretion of starved zooplankton. *Mar. Biol.*, 21 (1) : 19-28.
- MAYZAUD, P., 1973b. Respiration et excrétion azotée du zooplancton : III. Étude de l'influence des variations thermiques. *Ann. Inst. Oceanogr. Paris*, 49 (2) : 113-122.
- MENZEL, D. W. & J.H. RYTHER, 1961. Zooplankton in the Sargasso Sea off Bermuda and its relation to organic production. *J. Cons. Perma. Int. Explor. Mer* 26 : 250-258.
- MULLIN, M.M., 1963. Some factors affecting the feeding of marine copepods of the genus *Calanus*. *Limnol. Oceanogr.*, 7 : 239-249.
- NIVAL, P., G. MALARA, R. CHARRA, I. PALAZZOLI & S. NIVAL, 1974. Étude de la respiration et de l'excrétion de quelques copépodes planctoniques (Crustacea) dans la zone de remontée d'eau profonde des côtes marocaines. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 15 (3) : 231-260.
- PAFFENHÖFER, G.A. & J.D.H. STRICKLAND, 1970. A note on the feeding of *Calanus helgolandicus* on detritus. *Mar. Biol.*, 5 : 97-99.
- PAGANO, M. & L. SAINT-JEAN, 1985. Premières données sur la nutrition d'*Acartia clausi* en lagune Ebrié (côte d'Ivoire) obtenues par des mesures de la fluorescence de broyats d'animaux. *Hydrobiologia*, 121 : 83-95.
- PETERSON, W., S. PAINTING & R. BARLOW, 1990. Feeding rates of *Calanoides carinatus* : a comparison of five methods including evaluation of the gut fluorescence method. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 63 : 85-92.
- POULET, S.A., 1976. Feeding of *Pseudocalanus minutus* on living and non-living particles. *Mar. Biol.*, 34 : 117-125.
- PRICE, H.J. & G.A. PAFFENHÖFER, 1984. Effects of feeding experiences in the copepod *Eucalanus pileatus* : a cinematographic study. *Mar. Biol.*, 84 : 35-40.

- PRICE, H.J., G.A. PAFFENHÖFER & J.R. STRICKLER, 1983. Modes of cell capture in calanoid copepods. *Limnol. Oceanogr.*, 28 : 116-123.
- ROMAN, M.R., 1977. Feeding of the copepod *Acartia tonsa* on the diatom *Nitzschia closterium* and brown algae (*Fucus vesiculosus*) detritus. *Mar. Biol.*, 42 : 149-155.
- ROMAN, M.R. & P.A. RUBLEE, 1980. Containment effects in copepod grazing experiments : A plea to end the black box approach. *Limnol. Oceanogr.*, 25 (6) : 982-990.
- SAIZ, E., V. RODRIGUEZ & M. ALCARAZ, 1992. Spatial distribution and feeding rates of *Centropages typicus* in relation to frontal hydrographic structures in the Catalan Sea (Western Mediterranean). *Mar. Biol.*, 112 : 49-56.
- SAUTOUR, B., 1991. Populations zooplanctoniques dans le Bassin de Marennes-Oléron ; dynamique de population, nutrition et production des copépodes dominants. *Thèse Doct. Univ. Bordeaux I*, 283 pp.
- SAUTOUR, B., & J. CASTEL, 1993a. Données sur le comportement alimentaire du Copépode *Euterpina acutifrons*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 316 : 1500-1504.
- SAUTOUR, B., J. CASTEL, 1993b. Feeding behaviour of the coastal copepod *Euterpina acutifrons* on small particles. *Cah. Biol. Mar.*, 34 : 239-251.
- SCHNACK, S.B., 1979. Feeding of *Calanus helgolandicus* on phytoplankton mixtures. *Mar. Ecol.*, 1 : 41-47.
- SHUMAN, F.R. & C.Z. LORENZEN, 1975. Quantitative degradation of chlorophyll by a marine herbivore. *Limnol. Oceanogr.*, 20 (4) : 580-586.
- SIMARD, Y., G. LACROIX & I. LEGENDRE, 1985. *In situ* twilight rhythm during diel vertical migrations of a scattering layer of *Calanus finmarchicus*. *Limnol. Oceanogr.* 30 (3) : 598-606.
- STICKLAND, J. H. D. & T.R. PARSONS, 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2 ed. *Bull. Fish. Res. Bd Can.*, 167 : 1-130.
- URRY, D.L., 1965. Observations on the relationship between the food and survival of *Pseudocalanus elongatus* in the laboratory. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 45 : 49-58.
- WANG, R. & R.J. CONOVER, 1986. Dynamics of gut pigment in the copepod *Temora longicornis* and the determination of *in situ* grazing rates. *Limnol. Oceanogr.*, 31 (4) : 867-877.
- WEIBE, T., 1983. Feeding of Calanoid Copepods in relation to *Phaeocystis pouchetti* blooms in the German Wadden Sea area off Sylt. *Mar. Biol.*, 74 (1) : 87-94.