



HAL
open science

**TAUX DE FILTRATION DU ROTIFÈRE
BRACHIONUS CALYCIFLORUS: LAISON DES
MÉTHODES DE MESURE; INFLUENCE DE L'ÂGE**
**Filtration rate in the rotifer *Brachionus calyciflorus*:
comparison of the measuring methods; influence of âge**

S. Mourelatos, R. Pourriot, C. Rougier

► **To cite this version:**

S. Mourelatos, R. Pourriot, C. Rougier. TAUX DE FILTRATION DU ROTIFÈRE BRACHIONUS CALYCIFLORUS: LAISON DES MÉTHODES DE MESURE; INFLUENCE DE L'ÂGE Filtration rate in the rotifer *Brachionus calyciflorus*: comparison of the measuring methods; influence of âge. Vie et Milieu / Life & Environment, 1990, pp.39-43. hal-03035487

HAL Id: hal-03035487

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03035487v1>

Submitted on 2 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

TAUX DE FILTRATION DU ROTIFÈRE *BRACHIONUS CALYCIFLORUS* : COMPARAISON DES MÉTHODES DE MESURE ; INFLUENCE DE L'ÂGE

*Filtration rate in the rotifer Brachionus calyciflorus :
comparison of the measuring methods ; influence of age*

S. MOURELATOS, R. POURRIOT et C. ROUGIER

Laboratoire d'Ecologie (UA 258), Ecole Normale Supérieure,
46 rue d'Ulm, F-75230 Paris

BROUTAGE
BRACHIONUS CALYCIFLORUS
NUMÉRATIONS CELLULAIRES
RADIOTRACEURS
INFLUENCE DE L'ÂGE

GRAZING
BRACHIONUS CALYCIFLORUS
CELL COUNTS
RADIOTRACERS
AGE INFLUENCE

RÉSUMÉ — Des mesures de broutage du Rotifère *Brachionus calyciflorus* ont été faites en laboratoire simultanément par deux techniques différentes : numérations cellulaires à l'hématimètre (cellule de Thoma) et méthode aux radiotraceurs (marquage des *Chlorelles* au ^{14}C). Les résultats obtenus sont analogues. L'utilisation d'une variante de la méthode au radiotraceur (congélation des animaux), a démontré que le taux de broutage des jeunes *Brachions* était trois fois inférieur à celui des femelles adultes mais que par unité de poids, les jeunes filtraient nettement plus que les adultes.

ABSTRACT — Grazing rate measurements were performed in the laboratory on *Brachionus calyciflorus* by using two different techniques : cell counts on a hemati-meter (Thoma cell) and the radiotracer method (^{14}C -labelled *Chlorella*). Results obtained by means of these two methods had no significant differences. After freezing the labelled animals, we found that the clearance rate of the young *Brachionus* was three times less than that of adult females; yet younger animals filtered more actively than the adults in terms of dry weight.

INTRODUCTION

Peu d'études comparatives concernent les différentes méthodes utilisées pour l'évaluation du taux de filtration du zooplancton (Peters, 1984; Mourelatos, 1989). Aucune tentative n'a été faite jusqu'à présent pour tester la concordance entre deux méthodes couramment utilisées : numérations cellulaires et utilisation de traceurs au cours de brèves incubations. L'objectif de ce travail est donc de comparer les valeurs de broutage obtenues par ces deux techniques. Par ailleurs, de nombreux travaux portent sur le broutage des Rotifères (dont Starkweather, 1980, a fait une synthèse). Cependant, alors que l'influence de l'âge a été étudiée chez les Cladocères et les Copépodes, il n'en est pas de même pour les

Rotifères. Les résultats présentés ici (comparaisons de deux méthodes, influence de l'âge) concernent le Rotifère planctonique *Brachionus calyciflorus*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

Le clone de *Brachionus calyciflorus* utilisé provient d'une femelle récoltée en mars 1979 dans le lac de Créteil (Val de Marne). Il est élevé au laboratoire en enceinte obscure à 16°C, dans une eau de source peu minéralisée (commercialisée sous le nom de Volvic) et alimenté d'une Algue verte unicellulaire, *Chlorella pyrenoidosa*.

3 semaines avant l'expérimentation, les Rotifères ont été répartis équitablement dans 2 séries de 3 tubes à essais. Ces animaux ont été régulièrement nourris de Chlorelles le matin vers 9 h (heure du début des expériences). Au moment des tests, la densité de population dans chaque tube est du même ordre de grandeur pour chacune des 2 séries expérimentales, soit :

- 8.10^4 ind. L^{-1} (soit 1283 ± 66 femelles dans 16 mL) pour la série I
- 4.10^4 ind. L^{-1} (soit 766 ± 51 femelles dans 21 mL) pour la série II.

On a ajusté les concentrations initiales des 6 tubes de façon à avoir pour chacun une concentration de $0,78.10^6$ cell.mL $^{-1}$ dans les 2 séries (C_0).

On a distingué 3 catégories de Rotifères : les femelles amictiques ovigères, les adultes (regroupant les individus de même taille que les précédents mais ne portant pas d'œuf) et les jeunes. Le biovolume moyen d'une femelle adulte, ovigère ou non, est de $1,03.10^6 \pm 0,12 \mu m^3$ ($n=10$) et celui d'un jeune de $0,21 \pm 0,03 \mu m^3$ ($n=7$). La proportion de chaque catégorie dans chacun des 3 tubes de la série I est de $16,1 \pm 1,6\%$ de jeunes (j), $46,3 \pm 1,7\%$ d'adultes (f) et $37,7 \pm 3,8\%$ de femelles ovigères (ff). On considère que la proportion est similaire dans la série II.

2. Mesure du taux de filtration (Fig. 1)

Le taux de filtration des *Brachionus* est évalué par 2 méthodes : 1 - Comptages des Algues à l'hématimètre (cellule de Thoma) pour la série I (tubes A, B et C); 2 - Marquage des Algues au ^{14}C effectué simultanément pour la série II (tubes D, E et F).

2.1. Comptage des Algues

Le broutage des Algues est évalué par différence de l'abondance des Algues entre le début et la fin des expériences, soit 6 h. Pour les concentrations algales considérées, l'intervalle de confiance au seuil de probabilité 0,95 reste inférieur à 10 % de la moyenne lorsque l'on fait 2 mesures successives. Le temps de broutage est largement suffisant pour fournir des différences importantes entre les 2 comptages (du simple au double). Par ailleurs, la concentration d'un échantillon témoin de *Chlorella* (dans les mêmes conditions, mais sans Rotifères) ne varie pas : il n'est donc pas nécessaire d'utiliser un terme de correction pour la croissance algale.

Le taux de filtration, F, exprimé en $\mu L h^{-1}$, est calculé à partir de l'équation suivante :

$F = V (\ln C_0 - \ln C_t) / t.N$, où V = volume de milieu (= 16 mL), C_0 = concentration algale au temps $t = 0$, C_t = concentration algale au temps $t = 6$, t = durée de l'expérience (6 h), N = nombre de Rotifères.

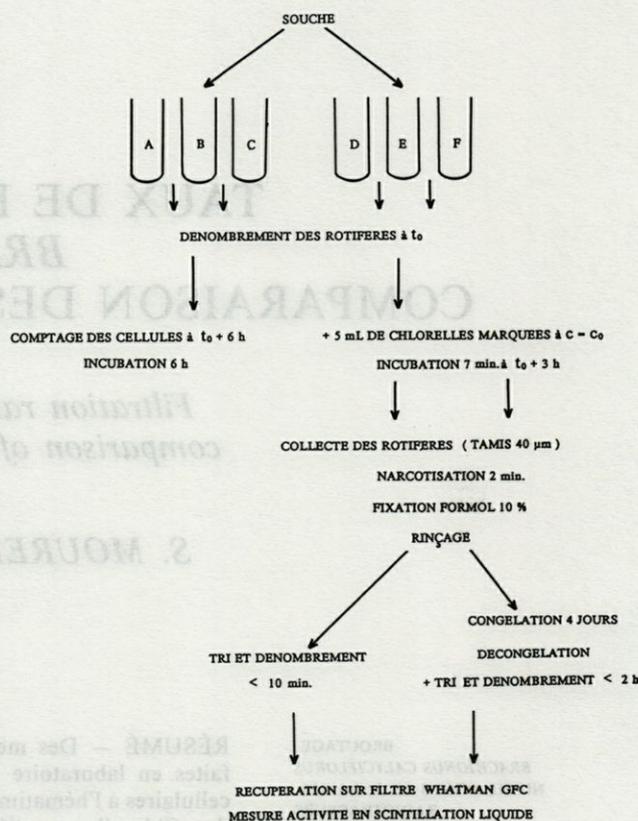


Fig. 1. — Protocole expérimental. C_0 : concentration des Chlorelles en début d'expérience (t_0).

Experimental method. C_0 : Chlorella concentration at the beginning of the experiment (t_0).

2.2. Méthode aux radiotraceurs

La procédure de marquage des Algues au $Na_2^{14}CO_3$ est décrite ailleurs par l'un de nous (Mourelatos, 1988).

3 h après le début des expériences de la série I, on ajoute au volume initial (16 mL) de chaque tube de la série II, 5 mL d'Algues marquées dont la concentration est la même que celle des Chlorelles non marquées, soit $0,78.10^6$ cell. mL $^{-1}$.

Les Rotifères restent en contact avec les Chlorelles marquées pendant 7 mn, durée nettement inférieure au temps du transit intestinal de *B. calyciflorus* (20 mn., selon Starkweather et Gilbert, 1977 b). Les animaux sont ensuite filtrés sur un tamis de 40 μm de vide de mailles et immédiatement narcotisés dans de l'eau de Seltz (CO_2) pendant 2 mn. puis tués dans du formol à 10 %. Ils sont enfin rincés dans 3 bains successifs d'eau distillée avant d'être triés immédiatement ou congelés.

a. Tri immédiat : 100 femelles adultes (ovigères ou non) sont triées rapidement (moins de 10 mn.), pour éviter les pertes d'activité, dans du formol à 4 %. Ensuite, elles sont récupérées sur un filtre GF/C

Whatman de 25 mm de diamètre (afin d'éliminer le formol). Chaque filtre est alors mis dans de petites fioles à scintillation avec 1 mL de solubilisateur (Protosol NEN). Après incubation à 50°C pendant 12 h, on introduit dans chaque fiole 10 mL de scintillant (Econofluor NEN). Enfin, on acidifie le mélange par addition de 2 ou 3 gouttes d'acide acétique à 90 % (Peters, 1984).

b. Tri après stockage: le reste des Rotifères marqués et formolés est congelé dans de l'azote liquide puis stocké au congélateur pendant 4 j. La congélation permet de trier les Brachions en 3 classes d'âges déjà mentionnées (j, f, ff). La récupération des animaux marqués sur filtre s'effectue exactement 2 h après décongélation dans le formol, temps suffisant pour le tri des animaux. Chaque filtre est ensuite traité comme indiqué précédemment.

Les pertes en ^{14}C des Cladocères marqués et congelés dans le formol restent constantes pendant les 2 premières heures qui suivent la décongélation du formol (Mourelatos, sous presse). Un facteur de correction pour compenser ces pertes a été calculé pour *Brachionus* à partir de lots identiques de 100 femelles ayant ou non subis la congélation.

L'activité des échantillons marqués est mesurée par scintillation liquide au moins 4 h après l'ajout du scintillant, afin d'éviter le problème de chimio-luminescence. Les rendements de comptage étant les mêmes pour les Rotifères marqués et les Algues marquées, les corrections de quenching n'ont pas été nécessaires.

Pour chaque incubation, un témoin a été fait : des Rotifères formolés ont été soumis au même traitement que les Rotifères marqués vivants afin d'évaluer le niveau du « bruit de fond ». Ce dernier représente moins de 4 % de la radioactivité mesurée sur les animaux nourris.

Le taux de filtration, exprimé en $\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$, est calculé à partir de la formule suivante :

$$F = (\text{cpm ind}^{-1}) \times 60 / (\text{cpm } \mu\text{L}^{-1}) \times t,$$

où cpm ind^{-1} = activité des Rotifères marqués, par individu, diminuée de celle de la moyenne des 3 témoins, $\text{cpm } \mu\text{L}^{-1}$ = activité des Chlorelles marquées, t = temps d'incubation (min).

RÉSULTATS

1. Comparaison des méthodes.

Les 2 types de mesure (hématimètre et ^{14}C) sont effectués sur des populations qui n'ont pas exactement la même structure en tailles (Tabl. I). Néanmoins, les différences sont peu marquées (16 % de jeunes dans le lot I; pas de jeunes dans le lot II). Par ailleurs, le temps d'incubation (6 h) des expé-

riences du lot I représente une fraction faible du temps de génération de *Brachionus*; cette fraction, égale à environ 1/10 à la température d'incubation de 16°C (Pourriot et Deluzarches, 1971), entraîne une erreur sur l'estimation d'abondance de la population du sous échantillon n'excédant pas 5 %. Par conséquent, les résultats obtenus à partir de ces 2 méthodes testées sont comparables (Tabl. I).

Un test non-paramétrique (test U de Mann-Whitney) ne permet pas de rejeter l'hypothèse nulle selon laquelle il n'y aurait pas de différences entre les 2 méthodes. On peut donc considérer que ces 2 méthodes donnent des résultats semblables.

Tabl. I. — Comparaison des deux méthodes (j = jeunes, f = femelles adultes, ff = femelles ovigères).

Comparison of the two methods (j = young, f = adult females, ff = ovigerous females).

| Méthodes | Tubes | Effectifs de <i>B. calyciflorus</i> | Taux de filtration ($\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) |
|-------------------------|-------|-------------------------------------|---|
| Hématimètre | A | 1237 | 1,94 |
| | B | 1253 16% j 46% f 38% ff | 1,89 |
| | C | 1358 | 1,53 |
| Méthode ^{14}C | D | 100 (f+ff) | 1,60 |
| | E | 100 (f+ff) | 1,38 |
| | F | 100 (f+ff) | 2,78 |

2. Différences entre classes d'âge

Pour pouvoir étudier l'effet de l'âge sur le taux de filtration de *Brachionus*, on congèle dans le formol les animaux marqués au ^{14}C . Pour les Cladocères, il a été démontré que les pertes après congélation sont indépendantes de la taille de l'animal (Mourelatos, sous presse). On considère qu'il en est de même pour les Rotifères testés ici. Un facteur de correction de x 1,64 a été calculé (Tabl. II). Pour compenser ces pertes, il a été appliqué aux animaux congelés des 3 classes de taille triées.

Tabl. II. — Comparaisons des taux de filtrations, F ($\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) pour des lots de 100 femelles adultes (ovigères ou non) ayant subi ou non la congélation.

Comparison of the filtering rates, F ($\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) for aliquots of 100 adult females (ovigerous or not) without or after freezing.

| F sans congélation | F avec congélation |
|--------------------|--------------------|
| 1,38 | 0,67 |
| 1,60 | 0,70 |
| 2,78 | 0,97 |
| | 0,98 |
| | 1,13 |
| | 1,29 |
| | 1,52 |
| | 1,60 |
| | 1,65 |

$m \pm e. t.$ $m_1 = 1,92 \pm 0,75$ $m_2 = 1,17 \pm 0,37$

Le test U de Mann-Whitney, effectué sur les résultats bruts (Tabl. III) ne permet pas de différencier les adultes sans œufs (f) de ceux qui portent des œufs amictiques femelles (ff). Par contre, il apparaît une différence significative (à $p < 0,01$) du taux de filtration entre les jeunes Brachions (j) et les adultes (f et ff) : les jeunes filtrent environ 3 fois plus que les adultes.

Tabl. III. — Comparaison des taux de filtration, F ($\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) pour différentes classes d'âges de *Brachionus calyciflorus* après congélation. Fb = Valeurs brutes, Fc = Valeurs corrigées (Fb x 1,64).

Comparison of the filtering rate, F ($\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$) of different age classes of *Brachionus calyciflorus* after freezing. Fb = raw data, Fc = corrected data. (Fb x 1,64).

| Catégories | Fb | F | Fc |
|-------------|------|-----------|------|
| Jeunes | 0,20 | 0,35±0,14 | 0,57 |
| | 0,29 | | |
| | 0,34 | | |
| | 0,40 | | |
| | 0,51 | | |
| Adultes | 0,81 | 1,05±0,32 | 1,72 |
| | 0,81 | | |
| | 0,91 | | |
| | 1,18 | | |
| | 1,55 | | |
| F. ovigères | 0,91 | 1,01±0,20 | 1,66 |
| | 0,95 | | |
| | 1,17 | | |

DISCUSSION

1. Comparaison des méthodes de mesure et facteurs de variations

Comme le note Peters (1984), la comparaison directe des méthodes d'estimation du broutage du zooplancton a fait l'objet de peu de travaux. En outre, une partie de ces comparaisons méthodologiques peut difficilement servir de référence vu les critiques formulées à leur égard : expériences reposant sur l'utilisation de compteurs électroniques de particules (Coulter) (cf. les critiques de Baretta et Malschaert, 1985), ou les longues incubations avec radiotraceurs impliquant une perte de radioactivité par défécation et donc une sous-estimation des taux de filtration (Peters, 1984).

Hargis (1977) ne détecte pas de différence significative entre les taux d'ingestion d'*Acartia clausii* (Calanide) évalués soit à partir de la diminution de la teneur en chlorophylle (mesurée en fluorimétrie) de la suspension nutritive, soit à l'aide de brèves incubations en présence d'Algues marquées au ^{14}C . De même, nous avons noté une bonne concordance des résultats entre la méthode des comptages cellulaires et la méthode aux radiotraceurs. Toutefois, il est surprenant de constater qu'il y ait aussi peu de

comparaisons faites entre des méthodes si souvent utilisées.

Les valeurs de broutage obtenues pour *B. calyciflorus* sont du même ordre de grandeur que la majorité de celles indiquées par d'autres auteurs pour des températures comprises entre 20 et 25°C : le taux de filtration varie généralement de 1 à 10 $\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$ en fonction de la nature et de la concentration de la nourriture (Starkweather, 1980).

Seuls, Hallbach et Hallbach-Keup (1974) ont estimé le taux de filtration de *B. calyciflorus* dans des conditions comparables aux nôtres : même espèce nutritive à la même concentration, même densité élevée des Rotifères (10^4 ind.L^{-1}) imposée par la méthode de dénombrement des Algues. Dans ces conditions, où seule la température diffère (20°C au lieu de 16°C), le taux de filtration mesuré par Hallbach et Hallbach-Keup est de $2,03 \pm 0,6 \mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$. Cette valeur est très proche de celles que nous avons obtenues, ce qui pourrait s'expliquer par la faible influence de la température sur le taux de filtration (Starkweather et Gilbert, 1977a).

Pour des concentrations en levure similaires (10^6 cell. de *Chlorella pyrenoidosa* ont environ une biomasse de 9 μg), le taux de filtration de *B. calyciflorus* déduit de la figure de ces auteurs, se situe vers 3 $\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$, valeur peu différente des précédentes. Ces auteurs ont toutefois observé des taux de filtration maximum plus de 10 fois supérieurs, soit 45 à 50 $\mu\text{L ind}^{-1} \text{h}^{-1}$. De tels maximums, détectés grâce à la sensibilité de la méthode (particules nutritives marquées à l'aide de ^{32}p), sont vraisemblablement imputables aux faibles concentrations nutritives ($0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$) et/ou à la densité moindre des Rotifères mis en expériences (2 à $8 \cdot 10^3 \text{ L}^{-1}$), deux facteurs dont les effets sur le taux de filtration du zooplancton sont connus (Starkweather, 1980; Bui-kema, 1973).

2. Différence entre jeunes et adultes

Le volume moyen d'un *B. calyciflorus* adulte est d'environ $1,03 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$ et celui de la catégorie « jeune », de $0,21 \cdot 10^6 \mu\text{m}^3$. On peut en déduire que, lorsque le biovolume varie de 1 à 5, le taux de filtration, lui, ne varie que de 1 à 3 (Tabl. III).

Des écarts semblables ont été également observés au cours d'expériences *in situ* (méthode de Haney, 1971) chez divers Cladocères du lac de Crèteil par l'un de nous (Mourelatos, 1988). L'équation suivante a été établie à partir de 269 lots de Daphnies récoltés au cours d'un cycle saisonnier d'avril à novembre 1986 : $F = 0,699 B + 0,314 T - 3,50$ ($r^2 = 0,60$) où F est exprimé en $\text{mL ind}^{-1} \text{j}^{-1}$, B en μg de poids sec et T en °C. A $T = 16^\circ\text{C}$ (température de l'expérimentation avec *B. calyciflorus*) on calcule que, lorsque la biomasse d'une Daphnie varie de 1 à 5 μg , son taux de filtration ne varie que de 1 à 2,5.

On constate donc que, chez les Rotifères comme chez les Cladocères, les jeunes filtrent par unité de poids (ou de biovolume) nettement plus que les adultes.

REMERCIEMENTS — Nous remercions Nadine Angeli pour sa lecture critique de la première version de ce travail.

Reçu le 10 Juin 1988; received June 10, 1988

Accepté le 22 Mars 1989; accepted March 22, 1989

BIBLIOGRAPHIE

- BARETTA J.W. & J.P.F. MALSCHAERT, 1985. Experimental problems using electronic particle counters. *Hydrobiol. Bull.*, **19** : 21-27.
- BUIKEMA A.L., Jr, 1973. Filtering rate of the cladoceran *Daphnia pulex* as a function of body size, light and acclimation. *Hydrobiologia*, **41** : 517-527.
- HALBACH U. & G. HALBACH-KEUP, 1974. Quantitative Beziehungen zwischen Phytoplankton und der Populationsdynamik des Rotators *Brachionus calyciflorus* Pallas. Befunde aus Laboratoriumsexperimenten und Freilanduntersuchungen. *Arch. Hydrobiol.*, **73** : 273-309.
- HANEY J.F., 1971. An *in situ* method for measurement of zooplankton grazing rate. *Limnol. Oceanogr.*, **16** : 970-977.
- HARGIS J.R., 1977. Comparison of techniques for the measurement of zooplankton filtration rates. *Limnol. Oceanogr.*, **22** : 942-945.
- MOURELATOS S., 1988. Broutage du phytoplancton par le zooplancton dans un lac peu profond. Thèse Doct. Univ. Paris VI, 193 p.
- MOURELATOS S., 1989. A new technique for long preservation of ¹⁴C-labelled cladocerans. *Hydrobiologia* (sous presse).
- PETERS R.H., 1984. Methods for the study of feeding, grazing and assimilation by zooplankton. In : J.A. Downing et F.H. Rigler (eds) A manual on methods for the assessment of Secondary Productivity in Fresh Waters. Blackwell Scientific Publications IBP Hand book **17** : 336-412.
- POURRIOT R. & M. DELUZARCHES, 1971. Recherches sur la biologie des Rotifères. II. Influence de la température sur la durée du développement embryonnaire et post-embryonnaire. *Annls Limnol.*, **7** : 25-52.
- STARKWEATHER P.L., 1980. Aspects of the feeding behavior and trophic ecology of suspension-feeding Rotifers. *Hydrobiologia*, **73** : 63-72.
- STARKWEATHER P.L. & J.J. GILBERT, 1977 a. Feeding in the Rotifer *Brachionus calyciflorus*. II. Effect of food density on feeding rates using *Euglena gracilis* and *Rhodotorula glutinis*. *Oecologia*, **28** : 133-139.
- STARKWEATHER P.L. & J.J. GILBERT, 1977 b. Radiotracer determination of feeding in *Brachionus calyciflorus*: the importance of gut passage times. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, **8** : 261-263.

Pour tout renseignement s'adresser :
 Secrétaire Général de la C.I.R.S.M.
 16 boulevard de Suisse
 MC-92030 MONACO CEDEX
 Téléphone : 93.30.28.79
 Télécopie : 93.30.24.74