

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PECHES MARITIMES  
La Noë - Route de la Jonelière

B. P. n° 1049  
44037 NANTES CEDEX

-----  
IPM.3 Pollutions



ETUDE DE LA TOXICITE DE L'EFFLUENT MONTEDISON

VIS-A-VIS D'ORGANISMES MARINS

par

Patrick LASSUS et Pierre MAGGI

-----

Nantes, le 27 décembre 1973

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PECHES MARITIMES  
La Noë - Route de la Jonelière

B. P. n° 1049

44037 NANTES CEDEX

-----  
IPM.3 Pollutions

ETUDE DE LA TOXICITE DE L'EFFLUENT MONTEDISON

VIS-A-VIS D'ORGANISMES MARINS

par

Patrick LASSUS et Pierre MAGGI

-----  
Nantes, le 27 décembre 1973

## S O M M A I R E

### ETUDE DE LA TOXICITE DE L'EFFLUENT MONTEDISON VIS-A-VIS D'ORGANISMES MARINS

I - GENERALITES .....	1
II - ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE .....	4
A - Toxicité directe sur différents organismes benthiques et nectoniques .....	4
1 - Méthode expérimentale .....	4
2 - Résultats et discussion .....	5
a) Mollusques .....	5
b) Crustacés et poissons .....	8
B - Toxicité directe sur quelques organismes zooplanc- toniques .....	10
1 - Toxicité à l'égard d' <u>Artemia salina</u> .....	10
2 - Toxicité à l'égard de larves de <u>Carcinus</u> <u>maenas</u> au stade I .....	12
3 - Toxicité à l'égard de larves de <u>Palaemon</u> <u>serratus</u> au stade II .....	15
C - Toxicité directe sur quelques espèces phytoplano- toniques .....	16
1 - Etude de l'influence de dilutions du rejet Montedison sur la croissance de 4 espèces phytoplanctoniques .....	16
a) <u>Phaeodactylum tricor- nutum</u> .....	17
b) <u>Skeletonema costatum</u> .....	17
c) <u>Isochrysis galbana</u> .....	17
d) <u>Dunaliella tertiolecta</u> .....	19
2 - Etude de l'influence d'une solution acide et d'une solution de sulfate ferreux sur la croissance de <u>P. tricor- nutum</u> .....	21
3 - Conclusion .....	23

III - ETUDE DE LA TOXICITE A L'EGARD DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE .....	25
A - Action de dilutions de l'effluent Montedison sur le développement larvaire de <u>P. serratus</u> ...	25
1 - Expérience préliminaire .....	25
2 - Expérimentation sur des larves isolées ...	26
B - Action de dilutions de l'effluent Montedison sur le développement larvaire de <u>Portunus puber</u>	27
IV - ETUDE DE LA TOXICITE INDUITE .....	33
A - Accumulation de métaux par le phytoplancton ...	33
1 - Accumulation du fer .....	33
a) Méthode générale de séparation des formes chimiques du fer .....	36
b) Résultats et discussion .....	37
2 - Accumulation du zinc, du cuivre et du cadmium .....	40
B - Accumulation de métaux par l'intermédiaire d'une chaîne pélagique .....	42
1 - Mode opératoire .....	42
a) Echelon phytoplanctonique .....	42
b) Echelon zooplanctonique .....	43
c) Echelon nectonique .....	43
2 - Résultats et discussion .....	43
a) <u>Artemia salina</u> .....	43
b) <u>Palaemonetes varians</u> .....	46
c) <u>Gasterosteus aculeatus</u> .....	47
3 - Conclusion .....	48
V - CONCLUSIONS GENERALES .....	49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	55

=====

ETUDE DE LA TOXICITE DE L'EFFLUENT MONTEDISON

VIS-A-VIS D'ORGANISMES MARINS

par

Patrick LASSUS et Pierre MAGGI

-----

I - GENERALITES

L'échantillon d'effluent brut utilisé au cours de nos expériences a été reçu le 6 janvier 1973. Il se présente sous la forme d'une liqueur acide de couleur ocre avec une fraction insoluble assez réduite.

Les tests sont effectués à partir du surnageant dont le pH est très voisin de 0,2.

Nous avons réalisé, pour chaque expérience, une série de dilutions en eau de mer qui sont reproduites dans le tableau 1 (page 1) accompagnées des teneurs en fer correspondantes ainsi que des valeurs initiales du pH.

DILUTIONS	TENEURS EN FER (mg/l)	pH INITIAUX
1/10 000	4,4	6,8
1/ 5 000	8,6	6,3
1/ 3 000	13,8	6,0
1/ 2 000	22,0	5,7
1/ 1 000	44,0	3,3

Tableau 1 : Concentrations en fer et pH initiaux correspondant aux différentes dilutions de l'effluent en eau de mer.

./....

Parallèlement nous avons évalué la neutralisation progressive de l'effluent dilué par l'eau de mer. Ces résultats sont exprimés dans le tableau 2 (page 2).

		DILUTIONS DE L'EFFLUENT				
		1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000
EVOLUTION DU pH EN 4 JOURS	0	3,3	5,7	6,0	6,3	6,8
	1	3,3	6,2	7,0	7,3	7,6
	2	3,3	6,9	7,4	7,7	7,8
	3	3,3	7,1	7,6	7,8	7,9
	4	3,3	7,2	7,7	7,8	7,9

Tableau 2 : Evolution du pH au cours du temps pour les différentes dilutions de l'effluent en eau de mer.

Les taux de mortalité enregistrés dans les différents organismes testés pourront être attribués à différents facteurs. Nous retiendrons principalement les suivants :

- l'acidité initiale dont la neutralisation est plus ou moins rapide,
- la charge en sulfate ferreux,
- la teneur en autres métaux.

Afin de faire la part entre la toxicité propre au pH bas et celle pouvant être attribuée à la charge en métaux, nous avons testé, lorsque c'était possible, les effets d'une solution acide de référence au même pH que l'effluent dilué.

Les organismes testés sont issus de divers biotopes marins, tels que le benthos et le pelagos, ce dernier comprenant des individus représentant le plancton et le necton.

./.....

Nous avons ainsi utilisé :

- des mollusques : Mytilus edulis (moule)  
Cardium edule (coque)  
Gibbula umbilicalis (gibbule)  
Purpura lapillus (pourpre)  
Littorina littorea (bigorneau)
- des crustacés : Crangon crangon (crevette grise)  
Palaemon serratus (crevette bouquet)  
Palaemonetes varians (crevette)  
Clinabarius misanthropus (bernard l'ermite)
- des poissons : Pomatoschistus minutus (gobie de sable)  
Gasterosteus aculeatus (épineche)  
Anguilla anguilla (anguille)
- des organismes zooplanctoniques : Artemia salina (artémie)  
larves de Carcinus maenas (crabe vert)  
larves de Palaemon serratus (crevette bouquet)  
larves de Portunus puber (crabe étrille)
- des espèces phytoplanctoniques : Phaeodactylum tricornutum  
Skeletonema costatum  
Isochrysis galbana  
Dunaliella tertiolecta

L'ensemble de ce travail se décompose en trois parties :

L'étude de la toxicité aiguë

- A - Toxicité directe sur différents organismes benthiques et nectoniques
- B - Toxicité directe sur quelques organismes zooplanctoniques
  - 1 - Artemia salina
  - 2 - Larves de Carcinus maenas au stade I
  - 3 - Larves de Palaemon serratus au stade II.

./.....

C - Toxicité directe sur quelques espèces phytoplanctoniques

- 1 - Etude de l'influence de dilutions du rejet Montedison sur la croissance de quatre espèces phytoplanctoniques
- 2 - Etude de l'influence d'une solution acide et d'une solution de sulfate ferreux sur la croissance de Phaeodactylum tricornutum

L'étude de la toxicité à l'égard du développement larvaire

- A - Action sur le développement de Palaemon serratus
- B - Action sur le développement de Portunus puber

L'étude de la toxicité induite

- A - Accumulation de métaux par le phytoplancton
- B - Accumulation de métaux par l'intermédiaire d'une chaîne pélagique

II - ETUDE DE LA TOXICITE AIGUE

A - Toxicité directe sur différents organismes benthiques et nectoniques

1 - Méthode expérimentale

Les animaux testés ont été récoltés dans le milieu marin en des endroits non pollués. Ils ont été utilisés après 24 heures de stabulation.

Pour chaque dilution d'effluent nous avons utilisé 10 animaux placés dans 2 l de milieu contenus dans des cristallisoirs en verre de 4 l. Aucune nourriture n'était ajoutée au milieu, pendant les 4 jours d'expériences.

Une aération constante était assurée en permanence à l'intérieur des cristallisoirs.

Chaque jour les individus morts étaient prélevés ; ils étaient comptabilisés après 48 et 96 heures.

./.....

2 - Résultats et discussion

a) Mollusques : les pourcentages de mortalité exprimés après 48 h et 96 h sont réunis dans le tableau 3 (page 5).

		DILUTIONS DE L'EFFLUENT					
		1/10000	1/5000	1/3000	1/2000	1/1000	1/500
Cardium edule	48 h	0	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	0	10
Mytilus edulis	48 h	0	0	0	0	10	20
	96 h	0	0	0	0	35	70
Purpura lapillus	48 h	0	0	0	0	0	60
	96 h	0	0	0	0	0	70
Littorina littorea	48 h	0	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	0	0
Gibbula umbilicalis	48 h	0	0	0	0	0	60
	96 h	0	0	0	0	50	100

Tableau 3 : Pourcentages de mortalité à 48 et 96 heures pour différents mollusques exposés à 6 dilutions de l'effluent.

La mortalité a été également relevée pour les mêmes espèces exposées à différents taux d'acidité. Nous avons pour cela réalisé des dilutions, en eau de mer, d'acide sulfurique 1 N afin de retrouver des valeurs de pH comparables à celles de l'effluent dilué. Les résultats sont exprimés dans le tableau 4 (page 6).

Les résultats du tableau 3 montrent que les effets toxiques apparaissent pour les dilutions 1/500 et 1/1000 soit pour des pH initiaux inférieurs ou égaux à 3,3 qui ne varient pas au cours du temps (cf. tableau 2).

./.....

		DILUTIONS D'UNE SOLUTION N DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
		N/500	N/400	N/300	N/200	N/100
Mytilus edulis	48 h	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	0
Cardium edule	48 h	0	0	0	0	30
	96 h	0	0	0	20	60
Gibbula umbilicalis	48 h	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	10
Purpura lapillus	48 h	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	20
Littorina littorea	48 h	0	0	0	0	0
	96 h	0	0	0	0	0

Tableau 4 : Pourcentage de mortalité à 48 et 96 heures pour différents mollusques exposés à des dilutions d'une solution 1 N d'acide sulfurique.

De même on observe des mortalités dues à l'acidité (tableau 4) pour les dilutions N/200 et N/100 qui correspondent à des pH inférieurs ou égaux à 3,5 (tableau 5, page 7).

L'ensemble de ces résultats montre que les mollusques résistent bien, probablement à cause de leur faculté à s'isoler d'un milieu hostile. Dans le cas des dilutions de la solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> le pH ne reste pas constant pour toutes les dilutions ; l'évolution de la neutralisation par l'eau de mer des dilutions de la solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a été mesurée, pendant 4 jours, dans les mêmes conditions que pour l'effluent. C'est ce qui est exprimé dans le tableau 5.

		DILUTIONS D'UNE SOLUTION N DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
		N/100	N/200	N/300	N/400	N/500
EVOLUTION DU pH EN 4 JOURS	0	2,5	3,4	5,5	5,8	6,1
	1	2,5	3,4	6,5	6,8	7,2
	2	2,5	3,4	7,3	7,4	7,6
	3	2,5	3,4	7,4	7,6	7,7
	4	2,5	3,4	7,5	7,7	7,8

Tableau 5 : Evolution du pH au cours du temps pour les différentes dilutions, d'une solution d'acide sulfurique 1 N, en eau de mer.

Etant donné la nature très acide de l'effluent nous avons voulu connaître la part du carbonate de calcium des coquilles de mollusques dans le processus de neutralisation de l'acidité. Ainsi 25 g de coquilles d'huitres ont été placés dans 500 ml d'une solution acide d'eau de mer à pH initial de 3,8 ; trois jours après, l'acidité était pratiquement neutralisée puisque le pH atteignait 7,7. Dans 500 ml de la même solution acide d'eau de mer, mais dépourvue de coquilles, le pH était resté inchangé.

Les résultats sont donnés dans le tableau 6 (page 7).

	MONTEDISON 1/1000	MONTEDISON 1/1000 + COQUILLES HUITRES:
To	3,8	3,8
To + 1/2 h	3,8	4,1
To + 1 h	3,8	5,1
To + 2 h	3,8	5,8
To + 4 h	3,8	6,2
To + 24 h	3,8	7,0
To + 48 h	3,8	7,6
To + 72 h	3,8	7,7

Tableau 6 : Variation du pH en fonction du temps.

Mais il nous a semblé que les animaux d'expérience pouvaient influencer les variations du pH du milieu, aussi avons nous suivi l'évolution du pH sur 2 l de dilutions au 1/2000 et au 1/1000 contenant soit 10 civelles d'Anguilla anguilla et 6 Palaemon serratus soit 6 huîtres et 6 moules.

Un essai témoin a été conduit, pour chaque dilution, sur 2 l de solution dépourvus d'animaux. Les résultats sont rapportés dans le tableau 7 (page 9).

Les tableaux 6 et 7 montrent que le carbonate de calcium des coquilles de mollusques contribue à la neutralisation de l'effluent ; cependant les modifications observées dans le cas des civelles et des crevettes permettent d'envisager une action des sécrétions de ces animaux, le mucus des anguilles notamment.

Enfin pour la dilution 1/2000 la réserve alcaline de l'eau de mer suffit à neutraliser l'acidité due à l'effluent.

b) Crustacés et poissons : le protocole expérimental reste identique, de même que l'expression des résultats. Nous avons regroupé dans les tableaux 8 (page 9) et 9 (page 10) les pourcentages de mortalité obtenus pour les dilutions de l'effluent et de la solution N d'acide sulfurique.

Nous constatons des effets identiques pour l'effluent et la référence-acide : la mortalité apparaît aux dilutions 1/1000 pour l'effluent et N/200 pour la référence ; dans les deux cas les valeurs du pH (3,3 et 3,4) restent stables pendant toute la durée de l'expérimentation (cf. tableaux 2 et 5).

Remarquons que le bernard l'ermite se révèle l'espèce la plus résistante.

Pour les dilutions supérieures aucune mortalité n'a été observée. Il est à noter que le pH initial très proche de 6 atteindra, 4 jours après, des valeurs voisines de la neutralité.

./.....

	MONTEDISON 1/1000			MONTEDISON 1/2000		
	Pas d' animaux	Civelles: + Palaemon	Huîtres: + Moules	Pas d' animaux	Civelles: + Palaemon	Huîtres: + Moules
To	3,7	3,7	3,7	6,6	6,6	6,6
To + 1/2 h	3,7	3,8	4,0	6,9	6,8	7,1
To + 1 h	3,7	3,9	5,3	6,9	6,9	7,2
To + 2 h	3,7	4,0	6,2	6,9	6,9	7,2
To + 4 h	3,8	4,1	6,9	7,0	6,9	7,2
To + 24 h	3,8	5,3	7,4	7,4	7,2	7,6
To + 48 h	3,8	5,3	7,6	7,5	7,2	7,7
To + 72 h	3,8	6,1	7,7	7,5	7,5	7,7

Tableau 7 : Variations du pH en fonction du temps et des animaux placés dans 2 l des dilutions au 1/1000 et au 1/2000.

		DILUTIONS DE L'EFFLUENT					
		1/10000	1/5000	1/3000	1/2000	1/1000	1/500
Palaemon serratus	48 h	0	0	0	0	0	100
	96 h	0	0	0	0	0	100
Palaemonetes varians	48 h	0	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	0	100	100
Crangon crangon	48 h	0	0	0	0	66	100
	96 h	0	0	0	0	100	100
Clinabarius misanthropus	48 h	0	0	0	0	0	50
	96 h	0	0	0	0	0	65
Pomatoschistus minutus	48 h	0	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	0	100	100
Gasterosteus aculeatus	48 h	0	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	0	100	100
Anguilla anguilla	48 h	0	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	0	100	100

Tableau 8 : Pourcentages de mortalité à 48 et 96 heures, en fonction de la dilution de l'effluent Montedison, pour les crustacés et poissons.

		DILUTION D'UNE SOLUTION N DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
		N/500	N/400	N/300	N/200	N/100
Palaemonetes varians	48 h	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	100	100
Clinabarius misanthropus	48 h	0	0	0	0	100
	96 h	0	0	0	0	100
Gasterosteus aculeatus	48 h	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	100	100
Anguilla anguilla	48 h	0	0	0	100	100
	96 h	0	0	0	100	100

Tableau 9 : Pourcentages de mortalité à 48 et 96 heures, en fonction de la dilution d'une solution N d'acide sulfurique, pour les crustacés et poissons.

#### B - Toxicité directe sur quelques organismes zooplanctoniques

##### 1 - Toxicité à l'égard d'Artemia salina

Le processus expérimental reste le même que précédemment, excepté le volume des récipients : on comptait, pour chaque dilution, deux béchers contenant 500 ml de milieu contaminé et 12 artémies adultes chacun.

Les résultats sont exprimés, pour l'effluent dilué et pour la référence-acide, en pourcentages de mortalité à 48 et 96 heures (tableaux 10 et 11, page 11) ; nous constatons que lorsque le pH initial est proche de 6 il évolue vers la neutralité alors que pour les valeurs plus basses aucune variation n'intervient.

A pH comparables, les pourcentages de mortalité sont plus élevés dans l'effluent dilué que dans la solution sulfurique ; l'acidité seule est donc moins néfaste que l'effluent pour la survie d'A. salina. Un autre facteur intervient donc dans la mortalité des artémies. De fait, le rôle du fer, en tant que gêne physique, est confirmé par l'examen des individus morts prélevés en cours d'expérience : forte adsorption de particules ferriques sur les appendices et présence de ces particules dans le tractus digestif.

		DILUTIONS DE L'EFFLUENT				
		1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000
Teneurs en fer (mg/l)		44,0	22,0	13,8	8,6	4,4
Pourcentage de mortalité	48 h	100	56	16	12	2
	96 h	100	80	16	12	2
Evolution du pH en 4 jours	0	3,3	5,7	6,0	6,3	6,8
	1	3,3	6,2	7,0	7,3	7,6
	2	3,3	6,9	7,4	7,7	7,8
	3	3,3	7,1	7,6	7,8	7,9
	4	3,3	7,2	7,7	7,8	7,9

Tableau 10 : Pourcentage de mortalité d'Artemia salina en fonction de la dilution de l'effluent Montedison.

		DILUTIONS D'UNE SOLUTION N DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
		N/100	N/200	N/300	N/400	N/500
Pourcentage de mortalité	48 h	100	100	25	0	0
	96 h	100	100	34	0	0
Evolution du pH en 4 jours	0	2,5	3,4	5,5	5,8	6,1
	1	2,5	3,4	6,5	6,8	7,2
	2	2,5	3,4	7,3	7,4	7,6
	3	2,5	3,4	7,4	7,6	7,7
	4	2,5	3,4	7,5	7,7	7,8

Tableau 11 : Pourcentage de mortalité d'Artemia salina en fonction de la dilution d'une solution normale d'acide sulfurique.

./...

Par ailleurs des tests de toxicité sur A. salina, réalisés par WISELY et BLICK (1967), tendent à montrer d'une part une certaine tolérance aux pH bas (5,0) et, d'autre part, une grande résistance à des métaux lourds (mercure, cuivre et zinc). Notons que les teneurs correspondant aux  $DL_{50}$  trouvées par ces auteurs, sont très supérieures à celles que nous obtenons dans la dilution la plus faible de l'effluent Montedison.

Dans l'état actuel de nos travaux, l'influence des métaux lourds dans la mortalité d'A. salina est donc peu vraisemblable, alors que celle du fer particulière en tant que gêne physique tend à s'affirmer.

## 2 - Toxicité à l'égard de larves de Carcinus maenas au stade I

Les larves ont été séparées dès l'éclosion et groupées dans des cristallisoirs de 4 l contenant de l'eau de mer filtrée et aérée. Les individus étaient ensuite séparés et placés à raison de 5 pour 10 ml de milieu dans des cristallisoirs de 20 ml contenant les différentes dilutions des effluents ; on comptait 5 cristallisoirs par dilution.

Ce test a été réalisé sur une période de 3 jours au cours de laquelle le milieu est resté inchangé.

Chaque jour, les zoés mortes étaient comptées et prélevées. On ajoutait alors au milieu des oeufs deshydratés d'artémies et 0,2 à 0,5 ml de cultures phytoplanctoniques centrifugées à 2500 tours/mn pendant 10 mn. De cette façon, la dilution du milieu n'était pratiquement pas modifiée.

Nous avons testé la nocivité de l'effluent Montedison ainsi que celle d'une solution faiblement acide (2 % de  $H_2SO_4$ ) renfermant la même quantité de fer (44 g/l) en  $FeSO_4$ .

Les valeurs initiales du pH, pour chaque dilution de l'effluent et de sa référence en fer, sont données dans le tableau 12 (page 13).

	D I L U T I O N S				
	1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000
MONTEDISON	3,3	5,7	6,0	6,3	6,8
REFERENCE-FER MONTEDISON	6,3	6,8	7,1	7,2	7,6

Tableau 12 : Valeurs initiales du pH pour les différentes dilutions de l'effluent et de sa référence en fer.

La figure 1 (page 14) donne les pourcentages de survie des stades I de C. maenas exposés aux différentes dilutions des solutions testées pendant 3 jours.

On peut remarquer tout d'abord qu'au bout de 72 h la survie du témoin n'est pas totale puisque l'on constate une faible mortalité, soit 12 % de l'ensemble des individus.

Notons qu'à part le 1/1000 de l'effluent Montedison qui donne une mortalité de 100 % en 24 heures, on obtient pour toutes les autres dilutions une mortalité supérieure au témoin mais non proportionnelle à la quantité de fer ou à l'acidité.

Les larves prélevées après 3 jours montraient presque toutes une forte adsorption d'hydroxyde ferrique, en particulier dans les épines rostrales et au niveau des appendices. Cette adsorption était très variable d'un individu à l'autre et ne dépendait pas de la teneur en effluent.

Ainsi, il semble que seul l'état physique des particules ferriques intervienne soit en interférant avec la nutrition des organismes, soit en entravant leur mobilité, puisque les résultats obtenus avec l'effluent et avec la solution de référence en fer sont pratiquement identiques.

Notons que les larves de C. maenas se prêtent à des expérimentations de ce type puisqu'elles sont beaucoup plus sensibles que les adultes de la même espèce (CONNOR, 1971).

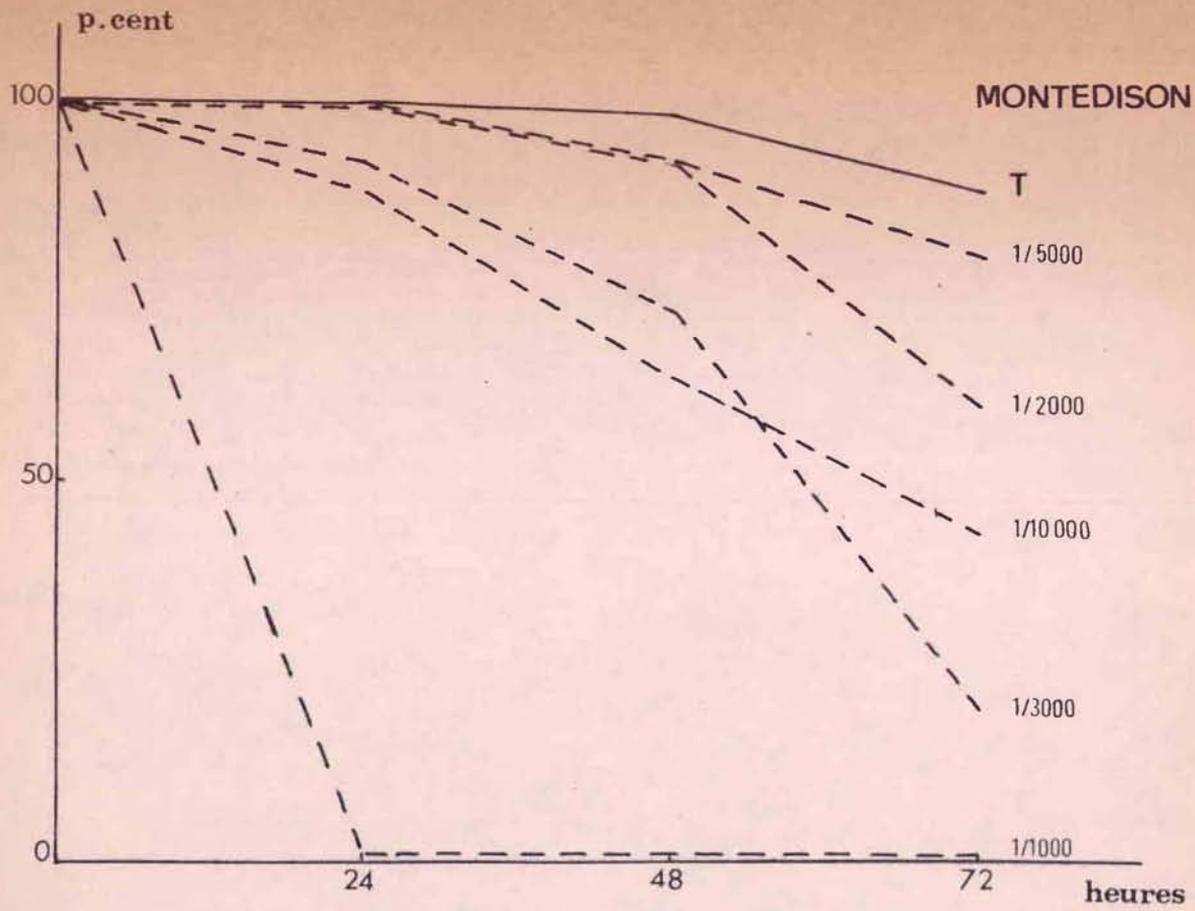
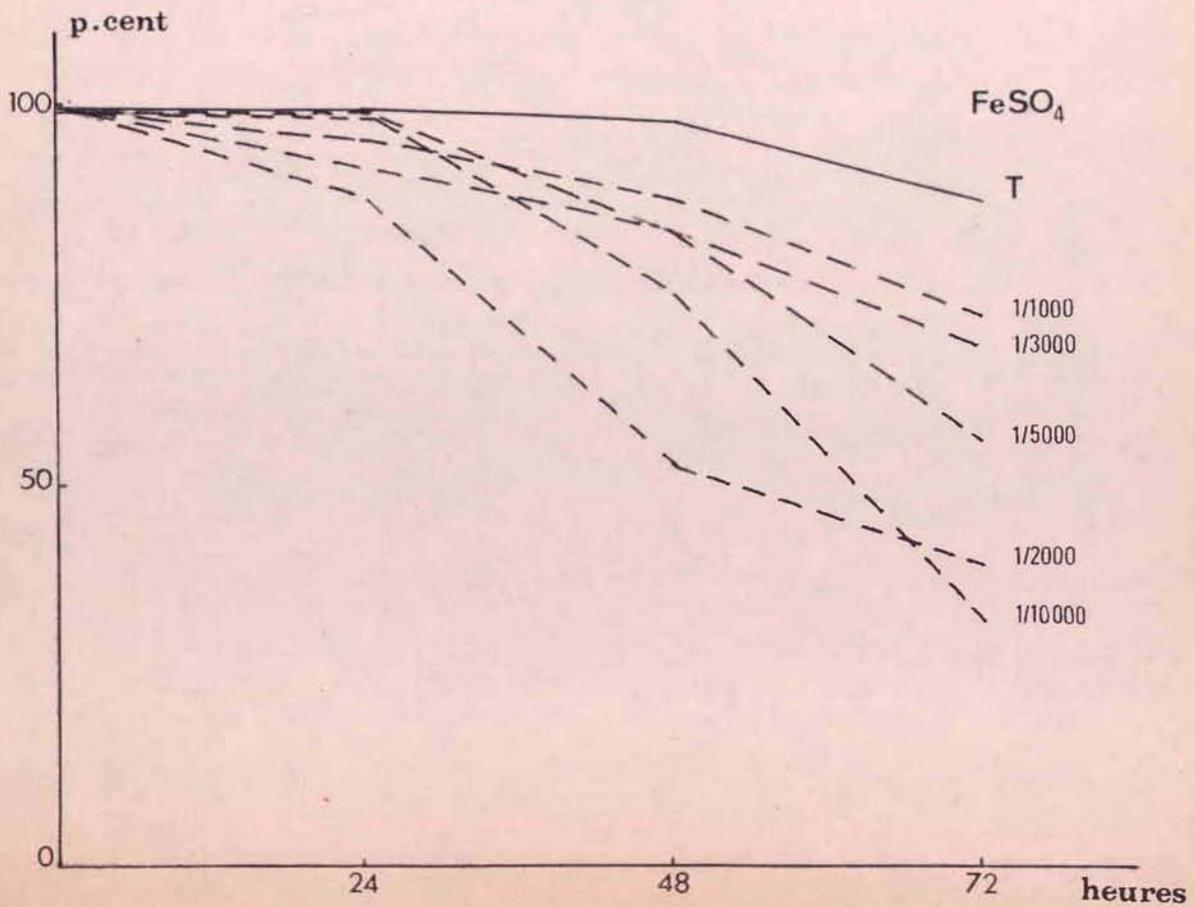


Figure 1 : Carcinus maenas pourcentages de survie des Zoés I



On peut donc envisager, pour ce type de milieu chargé en fer particulière, des réponses très variables d'un individu à l'autre, ce qui ne permet pas de situer de façon précise le niveau de toxicité du polluant.

### 3 - Toxicité à l'égard de larves de Palaemon serratus au stade II

Les mêmes dilutions, de l'effluent et de sa référence en fer, ont été testées pour les stades II de P. serratus. Les milieux étaient renouvelés tous les 2 jours et la nourriture consistait en nauplii d'artémies fraîchement éclos.

Les pourcentages de mortalité à 48 et 96 heures sont indiqués dans le tableau 13 (page 15).

		D I L U T I O N S				
		1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000
MONTEDISON	48 h	80	0	0	0	0
	96 h	100	35	15	15	20
REFERENCE-FER	48 h	0	5	0	0	0
	96 h	15	15	20	20	0

Tableau 13 ; Pourcentage de mortalité à 48 et 96 heures, des larves au stade II de Palaemon serratus, pour les différentes dilutions de l'effluent Montedison et de sa référence en fer.

Nous pouvons ainsi constater que, comme pour Carcinus maenas, on ne rencontre une mortalité totale que pour la dilution 1/1000 de l'effluent Montedison.

Les réductions de survie, observées pour toutes les autres dilutions, sont très probablement dues à des facteurs dépendant des conditions expérimentales ; en l'occurrence, le cannibalisme intraspécifique des larves : lorsque les mues ne sont pas synchrones, l'individu affaibli physiologiquement sert de proie à ses congénères.

./...

C - Toxicité directe sur quelques espèces phytoplanctoniques

1 - Etude de l'influence de dilutions du rejet Montedison sur la croissance de 4 espèces phytoplanctoniques

Nous avons testé l'action de dilutions de l'effluent sur :

2 diatomées : Phaeodactylum tricornutum

Skeletonema costatum

et

2 flagellés : Isochrysis galbana

Dunaliella tertiolecta

La proportion d'effluent dans le milieu est exprimée en terme de dilution dans du milieu de culture E. S. de PROVASOLI qui contient certains sels influant à la fois sur la valeur du pH et sur la teneur en fer. Ce milieu inclut en effet, sous forme de  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  et de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,68 mg/l de fer supplémentaire.

Les teneurs en fer ainsi que les valeurs initiales du pH sont données, pour chaque dilution, dans le tableau 14 (page 16).

		pH INITIAL	TENEURS EN FER (mg/l)
	1/1 000	4,0	44,0 + 0,68
	1/2 000	6,0	22,0 + 0,68
DILUTIONS	1/3 000	6,5	13,8 + 0,68
	1/5 000	7,2	8,6 + 0,68
	1/10000	7,8	4,4 + 0,68

Tableau 14 : Concentrations en fer et pH initiaux correspondant aux différentes dilutions de l'effluent Montedison dans le milieu E. S. de PROVASOLI.

L'évolution des cultures, aux différentes dilutions, est suivie par mesure de leur densité optique ; les variations dues aux précipités de sels de fer ont été corrigées par la mesure de "blancs" ne recevant pas d'inoculum phytoplanctonique.

Les résultats sont exprimés en pourcentages de réduction de croissance par rapport aux cultures témoins.

a) Phaeodactylum tricornutum (fig. 2, page 18)

On constate une dégénérescence de la culture au 1/1000 et des réductions de croissance de :

84 % au 1/ 2 000  
 50 % au 1/ 3 000  
 37 % au 1/ 5 000  
 et 5 % au 1/10 000

La  $DL_{50}$  se situerait donc au 1/3000, pour un pH initial de 6,9 et une teneur en fer de 14,48 mg/l.

b) Skeletonema costatum (fig. 2, page 18)

Cette diatomée semble plus tolérante au rejet testé puisque la croissance, à la dilution 1/5000 est comparable à celle du témoin.

Les réductions de croissance sont de :

85 % au 1/1 000  
 31 % au 1/2 000  
 et 11 % au 1/3 000

La  $DL_{50}$  est comprise entre 1/2 000 et 1/1 000.

c) Isochrysis galbana (fig. 2, page 18)

Pour ce flagellé on note, au 1/5000 et au 1/3000, peu de différence avec la culture témoin.

./.....

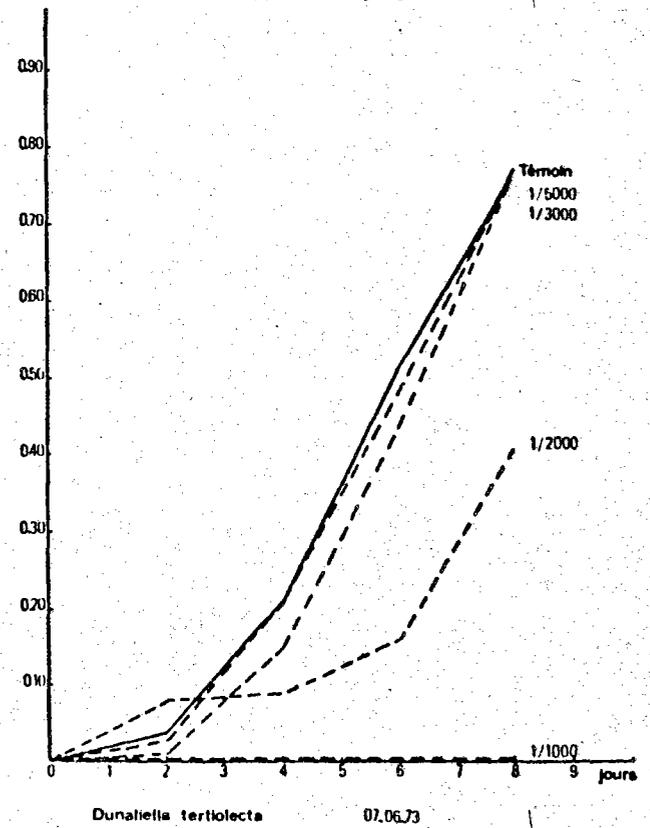
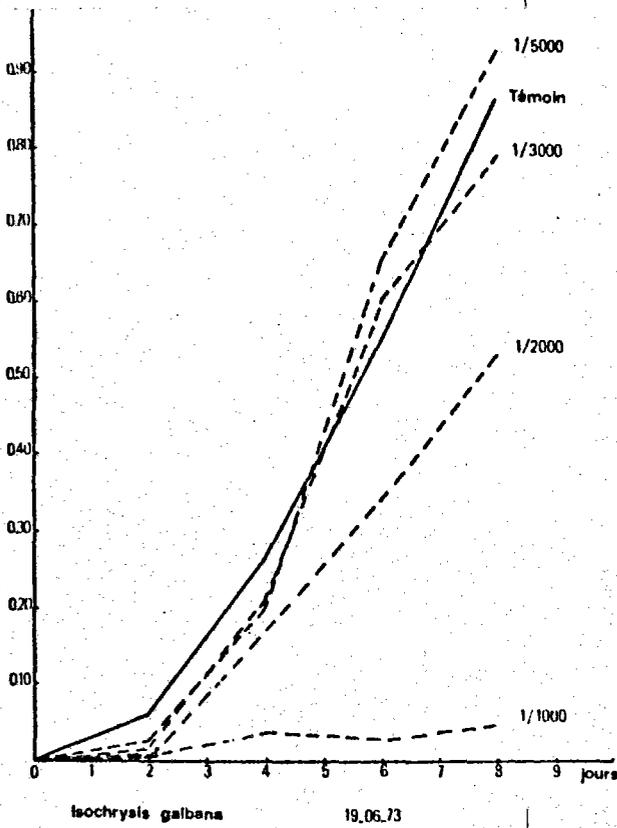
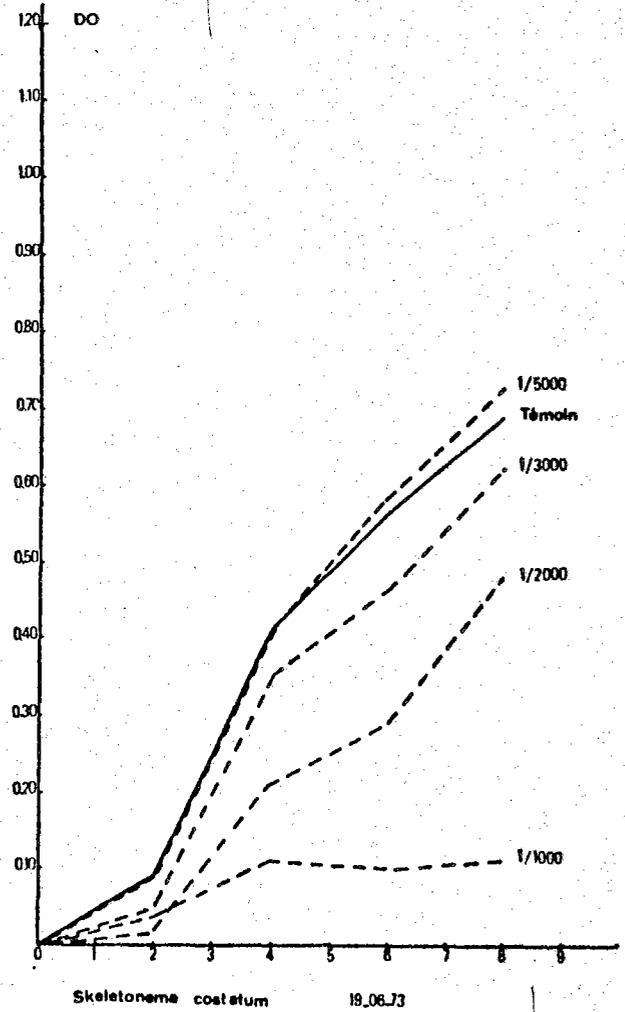
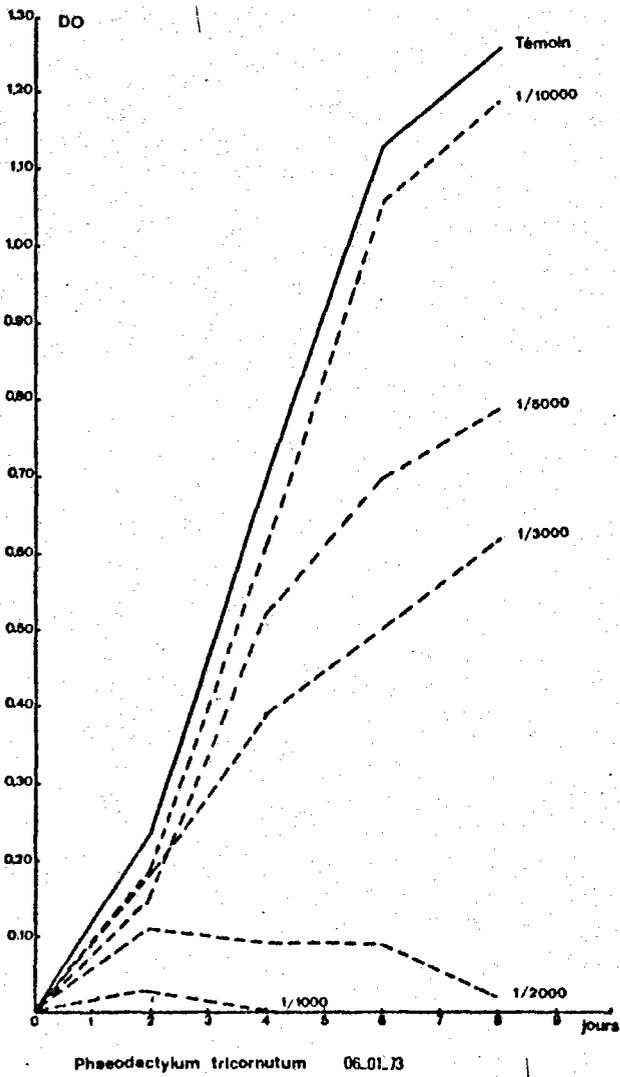


Fig. 2 : Courbes de croissances de 4 espèces phytoplanctoniques aux différentes dilutions de l'effluent Montedison testées.

Les réductions de croissance sont de :

39 % au 1/2 000  
et 95 % au 1/1 000

La  $DL_{50}$  est donc située entre 1/2000 et 1/1000.

d) Dunaliella tertiolecta (fig. 2, page 18)

On remarque une absence totale de croissance au 1/1000, comme pour Phaeodactylum tricornutum. En revanche, au 1/5000 et au 1/3000, la croissance est comparable à celle du témoin. Ce n'est qu'au 1/2000 que nous observons une réduction de 47 %.

La  $DL_{50}$  se situe donc à peu près au 1/2000.

On peut retenir que la réduction de croissance, due à l'effluent Montedison, varie quelque peu d'une espèce à l'autre. Elle avoisine 50 % pour les dilutions allant de 1/1000 à 1/3000.

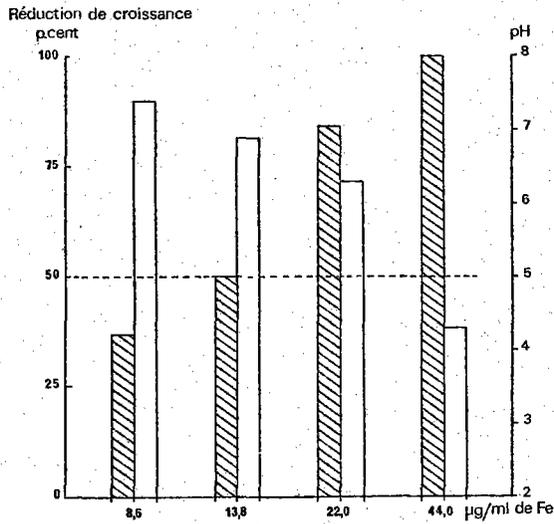
Les résultats obtenus ont été rassemblés dans la figure 3 (page 20). Pour plus de commodité les différentes dilutions de l'effluent ont été exprimées par leurs concentrations en fer ; à ces dernières ont été associés les pourcentages de réduction de croissance et les valeurs des pH initiaux correspondants.

Il apparaît que le pourcentage de réduction de croissance est inversement proportionnel à l'augmentation du pH ; les  $DL_{50}$  sont atteintes pour des valeurs de pH très proches de 6.

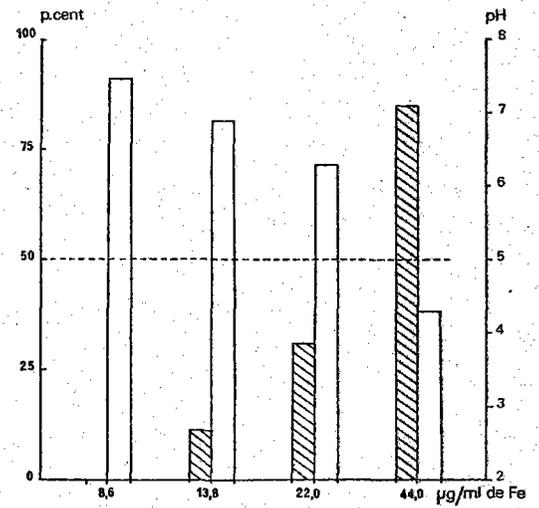
Enfin lorsque le pH initial descend jusqu'à 4,3, la mortalité est pratiquement totale pour les 4 espèces.

L'acidité semble donc être un facteur important dans la nocivité de l'effluent Montedison. Mais nous avons voulu faire la part exacte de l'acidité ainsi que celle de l'hydroxyde ferrique particulière, dans les perturbations constatées ; c'est ce que nous avons réalisé dans l'expérience suivante.

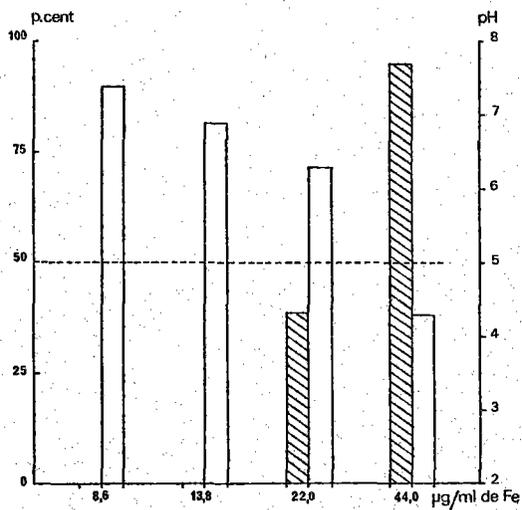
./...



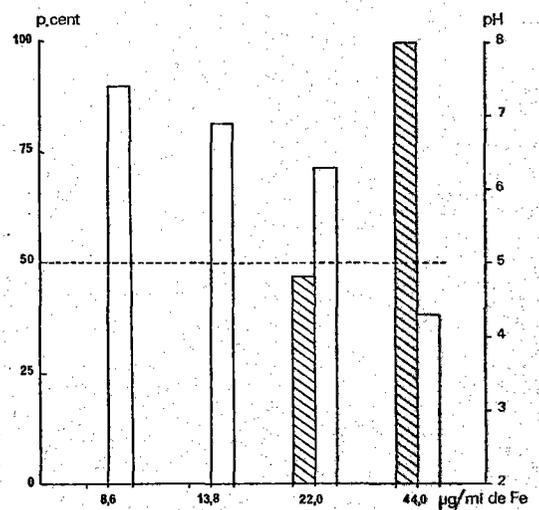
P. tricornutum



S. costatum



I. galbana



D. tertiolecta

**Fig. 13** : MONTEDISON. Pourcentages de réduction de croissance (hachures) et valeurs du pH au temps 0 (blanc) correspondants aux différentes teneurs en fer de l'effluent dilué. La  $DL_{50}$  est indiquée en pointillés.

2 - Etude de l'influence d'une solution acide et d'une solution de sulfate ferreux sur la croissance de Phaeodactylum tricornutum

Nous avons évalué, tout d'abord, les réductions de croissance correspondant respectivement à différentes dilutions d'une solution normale d'acide sulfurique servant de référence-acide et d'une solution de sulfate ferreux ( $\text{Fe} = 44 \text{ g/l}$  et  $\text{H}_2\text{SO}_4 = 2 \%$ ) ayant la même concentration en fer que l'effluent Montedison pour une acidité 6 fois moindre (référence-fer).

Pour les trois solutions (effluent Montedison, référence-acide et référence-fer), nous avons suivi la cinétique des pH en eau de mer enrichie, en milieu E. S. de PROVASOLI, pendant 8 jours. Les résultats sont donnés dans les tableaux 15, 16 et 17 (pages 22, 23) et la figure 4 (page 24).

La neutralisation de la référence-fer est complète dès le 4ème jour, soit la moitié de la durée totale de la culture, dans toutes les dilutions supérieures au 1/1000. On peut considérer que l'effet de l'acidité disparaît au pH atteint pour cette dernière dilution (6,9).

En ce qui concerne l'effluent Montedison et la référence-acide, la neutralisation est incomplète et les pH varient peu après le 4ème jour. Lorsque le pH au temps 0 est inférieur ou égal à 4,1 on ne note aucune neutralisation pendant toute la durée de la culture.

Il ressort de tout ceci que les réductions de croissance observées, après 8 jours, pour la référence-fer ne peuvent être imputées qu'au fer précipité présent dans le milieu. Néanmoins, compte tenu de l'absence de réduction de croissance enregistrée, pour les trois plus faibles concentrations de cette référence-fer, il semble que l'hydroxyde ferrique ne gênerait le développement cellulaire qu'à partir de teneurs voisines de 22 mg/l.

•/•••••

		D I L U T I O N S					
		1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000	
Teneurs en fer (*) (mg/l)		44,0	22,0	13,8	8,6	4,4	
% réduction de croissance		100	57	30	16	5	
Evolution du pH en 8 jours		To	4,0	6,0	6,5	7,2	7,8
		T1	4,0	6,6	7,1	7,5	7,8
		T2	4,1	7,1	7,5	7,7	7,9
		T3	4,1	7,3	7,6	7,8	7,9
		T4	4,1	7,4	7,7	7,8	7,9
		T6	4,1	7,4	7,7	7,8	7,9
		T8	4,1	7,4	7,7	7,8	7,9

Tableau 15 : Teneurs en fer, pourcentage de réduction de croissance de *P. tricornutum* et évolution du pH au cours du temps pour les différentes dilutions de l'effluent Montedison.

		D I L U T I O N S					
		1/1000	1/2000	1/3000	1/5000	1/10000	
Teneurs en fer (*) (mg/l)		44,0	22,0	13,8	8,6	4,4	
% réduction de croissance		42	15	5	0	0	
Evolution du pH en 8 jours		To	6,4	6,6	7,2	7,7	7,9
		T1	6,7	7,2	7,5	7,7	7,9
		T2	6,9	7,5	7,7	7,8	7,9
		T3	6,9	7,6	7,7	7,8	7,9
		T4	6,9	7,7	7,8	7,8	7,9
		T6	6,9	7,7	7,8	7,9	7,9
		T8	6,9	7,7	7,8	7,9	7,9

Tableau 16 : Teneurs en fer, pourcentages de réduction de croissance de *P. tricornutum* et évolution du pH au cours du temps pour les différentes dilutions de la solution de  $\text{FeSO}_4$  de référence.

(\*) Ces teneurs sont à majorer des 0,68 mg/l apportés par le milieu E. S. de PROVASOLI.

/.....

		DILUTION D'UNE SOLUTION N DE H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				
		N/100	N/200	N/300	N/400	N/500
Teneurs en fer (*) (mg/l)		0,68	0,68	0,68	0,68	0,68
% réduction de croissance		100	86	55	35	27
Evolution du pH en 8 jours	To	2,6	4,1	5,9	6,3	6,5
	T1	2,6	4,2	6,8	7,1	7,2
	T2	2,6	4,3	7,3	7,5	7,6
	T3	2,6	4,3	7,4	7,6	7,7
	T4	2,6	4,4	7,5	7,7	7,8
	T6	2,6	4,4	7,5	7,7	7,8
	T8	2,6	4,4	7,5	7,7	7,8

Tableau 17 : Pourcentage de réduction de croissance de P. tricornutum et évolution du pH au cours du temps pour différentes dilutions d'une solution normale de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Ainsi donc les réductions de croissance des cultures phyto-  
planctoniques seraient soumises à 3 facteurs :

- la valeur du pH initial,
- la vitesse de neutralisation de l'acidité pendant la durée de la culture,
- la charge en sulfate ferreux aux fortes concentrations.

Mais à ces effets néfastes de l'hydroxyde ferrique on peut opposer une légère amélioration de la croissance remarquée aux plus fortes dilutions de l'effluent (cf. fig. 2). Des résultats similaires ont été obtenus par KAYSER (1970) avec Phaeocystis poucheti.

### 3 - Conclusion

Le facteur prépondérant, dans la nocivité des rejets vis-à-vis des organismes phytoplanctoniques testés, est l'acidité ; cependant dans la mesure où l'hydroxyde ferrique précipite, à un pH encore bas, la turbidité doit intervenir pour une faible part en perturbant la croissance cellulaire.

./.....

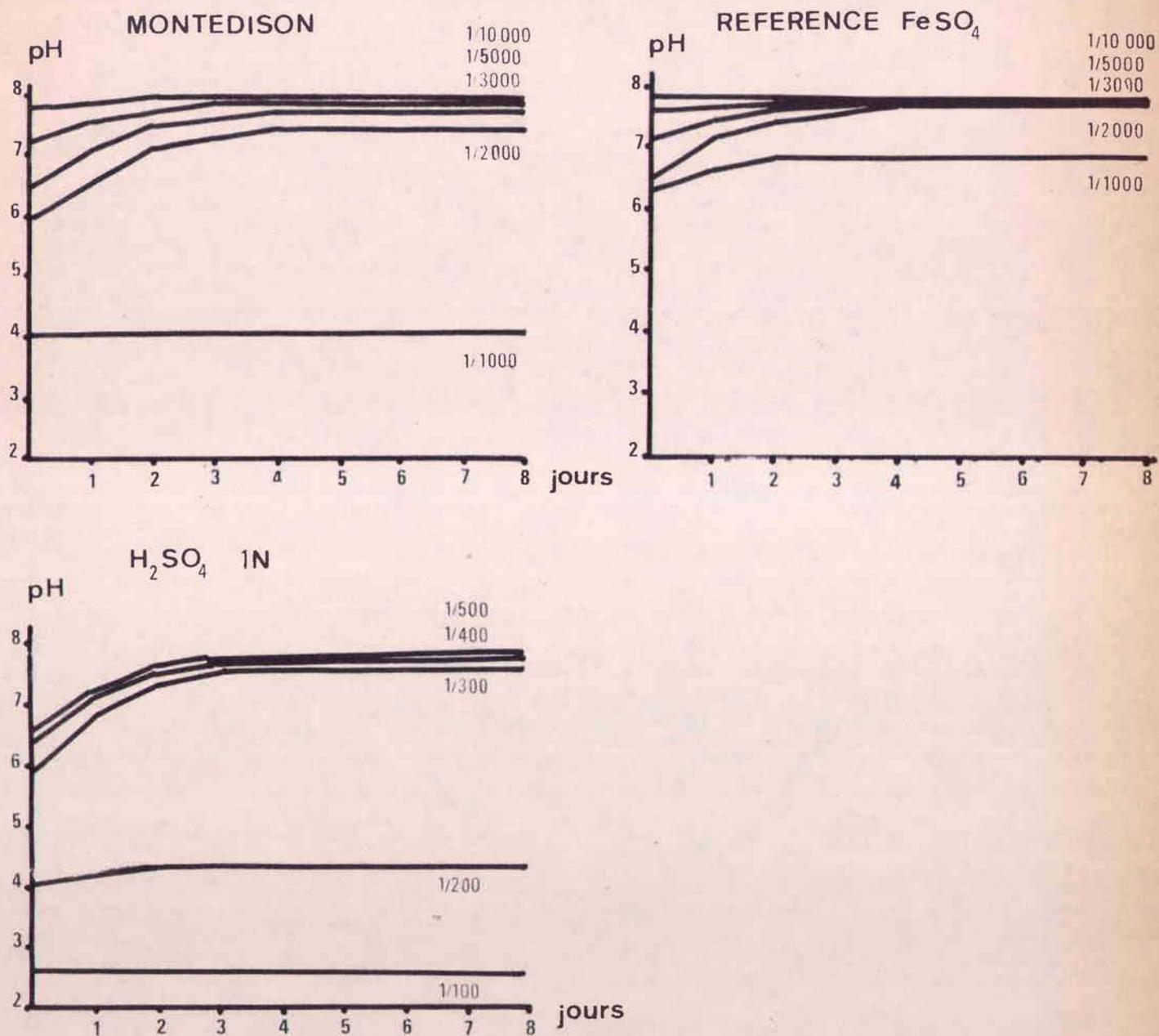


Fig.4 .Evolution dans le temps du pH des dilutions de l'effluent Montedison ,de la référence-fer et de la référence-acide

A des dilutions supérieures au 1/5000 la neutralisation est complète et de faibles quantités d'hydroxyde ferrique vont enrichir les eaux marines peu chargées en fer particulaire. Ce phénomène pourrait, dans certaines conditions écologiques ("bloom" printanier), accroître la production du phytoplancton.

Notons que, dans le milieu naturel, les dilutions observées se font en un délai assez court et sont suffisamment élevées pour que l'on puisse négliger, en dehors de la zone immédiate des déversements, la nocivité due à l'acidité seule des effluents.

Ainsi, après le rejet en mer de l'effluent Montedison, il a été observé une dilution dans les 6 premiers mètres, de 1/40000 à 1/50000 après 1 heure et de 1/150000 à 1/500000 après 24 heures (LEROY, 1972).

En revanche on peut supposer que le phytoplancton, par ses hautes capacités d'accumulation, peut concentrer ou transporter certains métaux lourds contenus à l'état de traces dans l'effluent. C'est ce que nous aborderons dans la dernière partie de ce travail.

### III - ETUDE DE LA TOXICITE A L'EGARD DU DEVELOPPEMENT LARVAIRE

#### A - Action de dilutions de l'effluent Montedison sur le développement larvaire de Palaemon serratus

##### 1 - Expérience préliminaire

Les larves de P. serratus ont été placées dans des cristallisoirs de 20 ml contenant 10 ml de milieu, aux différentes dilutions de l'effluent et de sa référence en fer. Le milieu était renouvelé tous les deux jours et les observations (mues et mortalités) effectuées quotidiennement, pendant 15 jours.

Cette première expérimentation, à raison de 4 larves par cristallisoir et 5 cristallisoirs par dilution, nous a montré que la mortalité était imputable, le plus souvent, au cannibalisme intraspécifique et ne pouvait signifier une influence des rejets au cours du développement. Aussi nous n'en avons pas tenu compte.

./....

En revanche, les pourcentages de mues, exprimés par le nombre d'exuvies par rapport au nombre d'individus vivants, indiqueraient, dans l'ensemble un décalage des périodes de mues comparativement aux témoins. C'est ce qui ressort des tableaux 18 et 19 (pages 27 et 28).

On remarque, pour les dilutions de l'effluent Montedison, un décalage notable de la période de mue aux 10ème et 14ème jours par rapport au témoin. Cet écart existe également pour la solution de référence en fer.

Enfin au 15ème jour les pourcentages de mues sont encore inférieurs à 100 pour toutes les dilutions ; ceci supposerait un allongement de la période de mue pour les stades les plus âgés.

Afin de faire la part entre la mortalité due au rejet et la mortalité accidentelle nous avons réalisé une deuxième expérimentation portant sur des larves isolées.

## 2 - Expérimentation sur des larves isolées

Nous avons choisi la concentration la plus forte qui ne manifeste pas de mortalité notable soit la dilution 1/2000 ainsi que sa référence en fer.

Nous avons utilisé des cristallisoirs de 20 ml contenant 10 ml de milieu et une larve. Pour chaque dilution, 20 cristallisoirs ont été employés.

Ainsi pensions-nous caractériser de façon certaine la réalité d'une influence des rejets, et en particulier du sulfate ferreux, sur la survie et la fréquence des mues pour les 5 premiers stades larvaires de P. serratus.

Les résultats sont illustrés dans la figure 5 (page 29).

./....

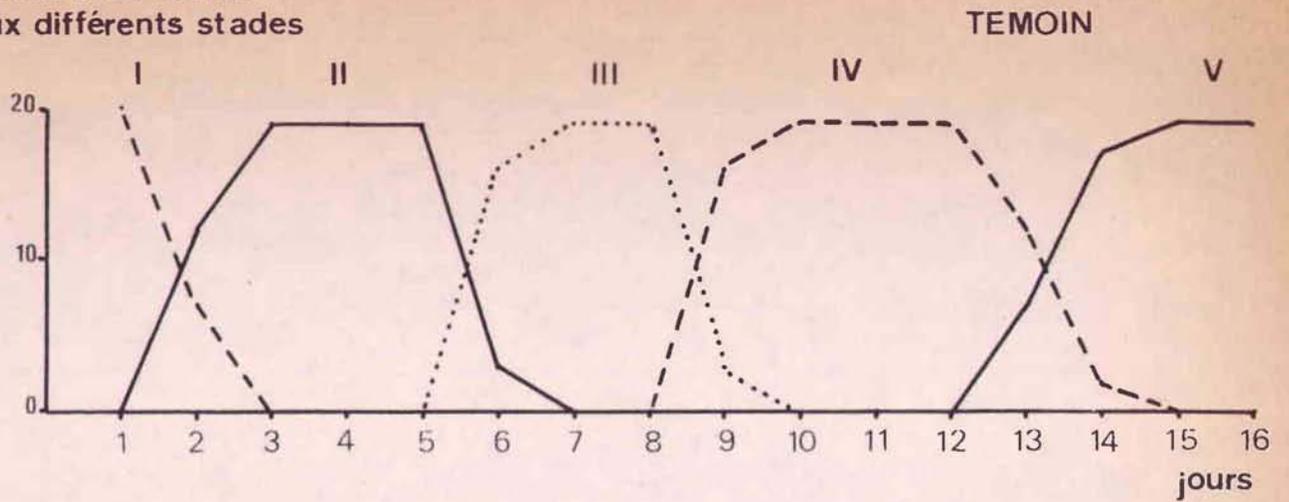
JOURS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15									
STADES	I	I	I	II	II	II	II	III	II	III	II	III	III	IV	III	IV	IV	IV	IV	V	IV	V	IV	V
TEMOINS	100	100	5	95	100	100	86	14	9	91	0	100	90	10	0	100	100	100	67	33	0	100	0	100
1/10000	100	100	0	100	100	100	100	0	0	100	0	100	100	0	73	27	100	100	100	0	80	20	50	50
1/5000	100	100	17	83	100	100	100	0	8	92	8	92	100	0	92	8	100	100	100	0	90	10	67	33
1/3000	100	100	23	77	100	100	100	0	15	85	8	92	100	0	80	20	100	100	100	0	70	30	60	40
1/2000	100	100	39	61	100	100	100	0	18	82	10	90	100	0	100	0	100	100	100	0	100	0	50	50

Tableau 18 : Expression journalière des pourcentages des différents stades larvaires de Palaemon serratus pour les dilutions de l'effluent Montedison.

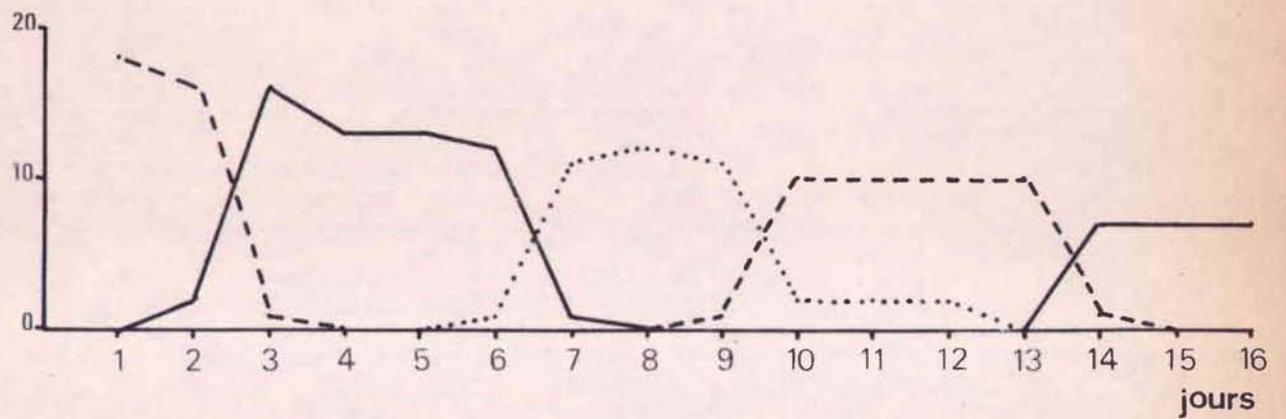
JOURS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15									
STADES	I	I	I	II	II	II	II	III	II	III	II	III	III	IV	III	IV	IV	IV	IV	V	IV	V	IV	V
TEMOINS	100	100	5	95	100	100	86	14	9	91	0	100	90	10	0	100	100	100	67	33	0	100	0	100
1/10000	100	100	6	94	100	100	100	0	8	92	0	100	0	100	55	45	0	100	100	0	60	40	34	66
1/5000	100	100	12	88	100	100	100	0	0	100	0	100	0	100	85	15	100	100	100	0	85	15	31	69
1/3000	100	100	10	90	100	100	100	0	15	85	8	92	100	0	82	18	100	100	100	0	73	27	37	63
1/2000	100	100	23	77	100	100	100	0	19	81	10	90	100	0	88	12	100	100	100	0	100	0	50	50
1/1000	100	100	0	100	100	100	100	0	32	68	27	73	100	0	86	14	100	100	100	0	84	16	50	50

Tableau 19 : Expression journalière des pourcentages des différents stades larvaires de Palaemon serratus pour les dilutions de la référence-fer de Montedison.

Nombre de larves  
aux différents stades



MONTEDISON 1/2000.



REFERENCE 1/2000

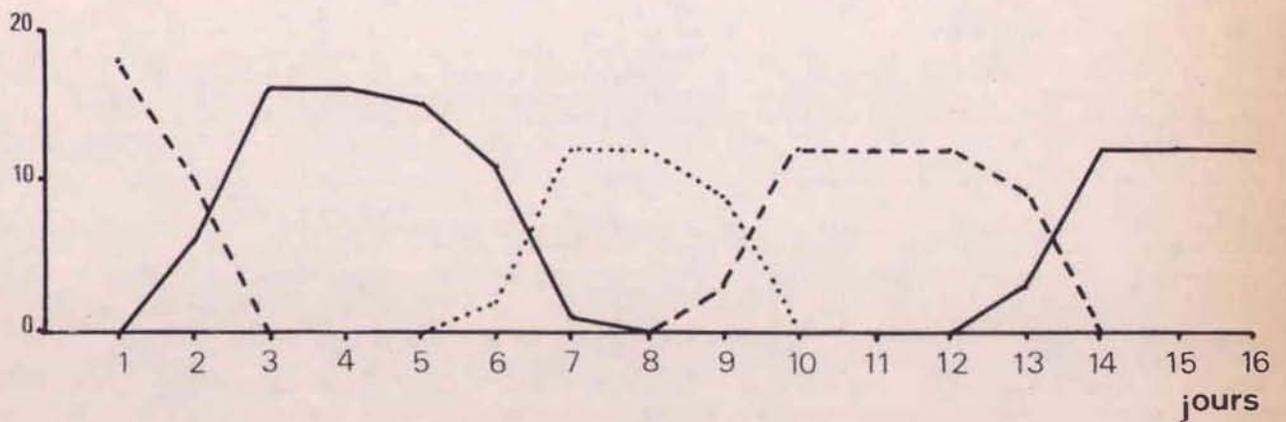


Fig.5 : Evolution du nombre de stades larvaires de Palaemon serratus au cours du temps.

Comparaison des résultats obtenus pour Montedison 1/2000 et sa référence-fer par rapport à un témoin.

On constate une réduction notable du nombre des individus en 16 jours, plus accentuée pour l'effluent lui-même que pour sa référence en fer.

Par ailleurs, on note qu'en regard du témoin le plus grand nombre d'individus contaminés ayant mué n'est observé qu'après un temps de latence d'un à deux jours.

Enfin, on observe une persistance d'individus n'ayant pas mué, bien après obtention du maximum de mues pour le stade suivant.

De l'ensemble de ces résultats, il ressort que la présence de l'effluent étudié, ou de sa correspondance en sulfate ferreux, entraîne un certain blocage de la mue qui se traduirait par un allongement de la durée normale de chaque stade par rapport au témoin. D'autre part, l'impossibilité pour les larves de se métamorphoser, après les 4 premiers stades, entraînait dans la plupart des cas la mort des individus.

On peut donc présumer que le déséquilibre ionique provenant de l'excès de sels ferriques interférerait de façon certaine avec les processus physiologiques accompagnant la mue. L'hydroxyde ferrique, en tant que gêne physique, agirait sur les individus conjointement à l'acidité des solutions.

#### B - Action de dilutions de l'effluent Montedison sur le développement larvaire de *Portunus puber*.

Les larves de *P. puber* ont été mises en expérimentation, 4 jours après l'éclosion, pour une durée de 20 jours ; le niveau de développement correspondait alors au stade II.

Nous avons utilisé des cristallisoirs de 20 ml contenant 10 ml de milieu et 4 larves. On comptait 20 cristallisoirs par dilution.

Les dilutions testées correspondent à des teneurs assez faibles (1/5000 et 1/10000) et de ce fait les pourcentages de survie sont peu affectés par rapport à celui des témoins.

Les résultats sont exprimés dans la figure 6 (page 32).

En dépit de conditions expérimentales identiques à celles employées pour Palaemon serratus (changement de milieu tous les deux jours), nous n'avons pu éviter une mortalité naturelle importante au moment de la métamorphose en zoé V et en mégaloïpe.

L'observation journalière des larves a montré une forte tendance à l'adsorption d'hydroxyde ferrique, en particulier sur les épines du tégument et les appendices. Ce fait avait déjà été remarqué pour Carcinus maenas ; en revanche, on ne l'a pas observé chez Palaemon serratus.

La figure 6 nous montre que :

- les pourcentages de mues des stades II et III sont plus réduits pour les deux dilutions testées, par rapport aux témoins,
- les larves au stade IV présentent une diminution du pourcentage de mues, accompagnée d'un allongement de la durée du stade,
- au stade V, on observe une diminution progressive du pourcentage de mues avec l'augmentation de la concentration ; on note également un allongement de la durée du stade assez prononcé pour la dilution 1/5000,
- enfin l'apparition des mégaloïpes est moins importante au 1/10000 que chez les témoins ; elle est inexistante au 1/5000.

En conclusion il semble que les larves de Portunus puber se montrent encore plus sensibles que celles de Palaemon serratus ; en effet, pour des dilutions plus importantes, des perturbations identiques de la mue larvaire planctonique sont observées.

D'après les observations effectuées chaque jour, le ramollissement des téguments et la baisse d'activité, des individus au moment de la mue, paraissent propices à la fixation de particules d'hydroxyde ferrique. Cet état doit gêner considérablement l'animal au moment de se défaire de son exuvie.

p.cent de mue par  
jour et par stade

p.cent total de  
mortalité

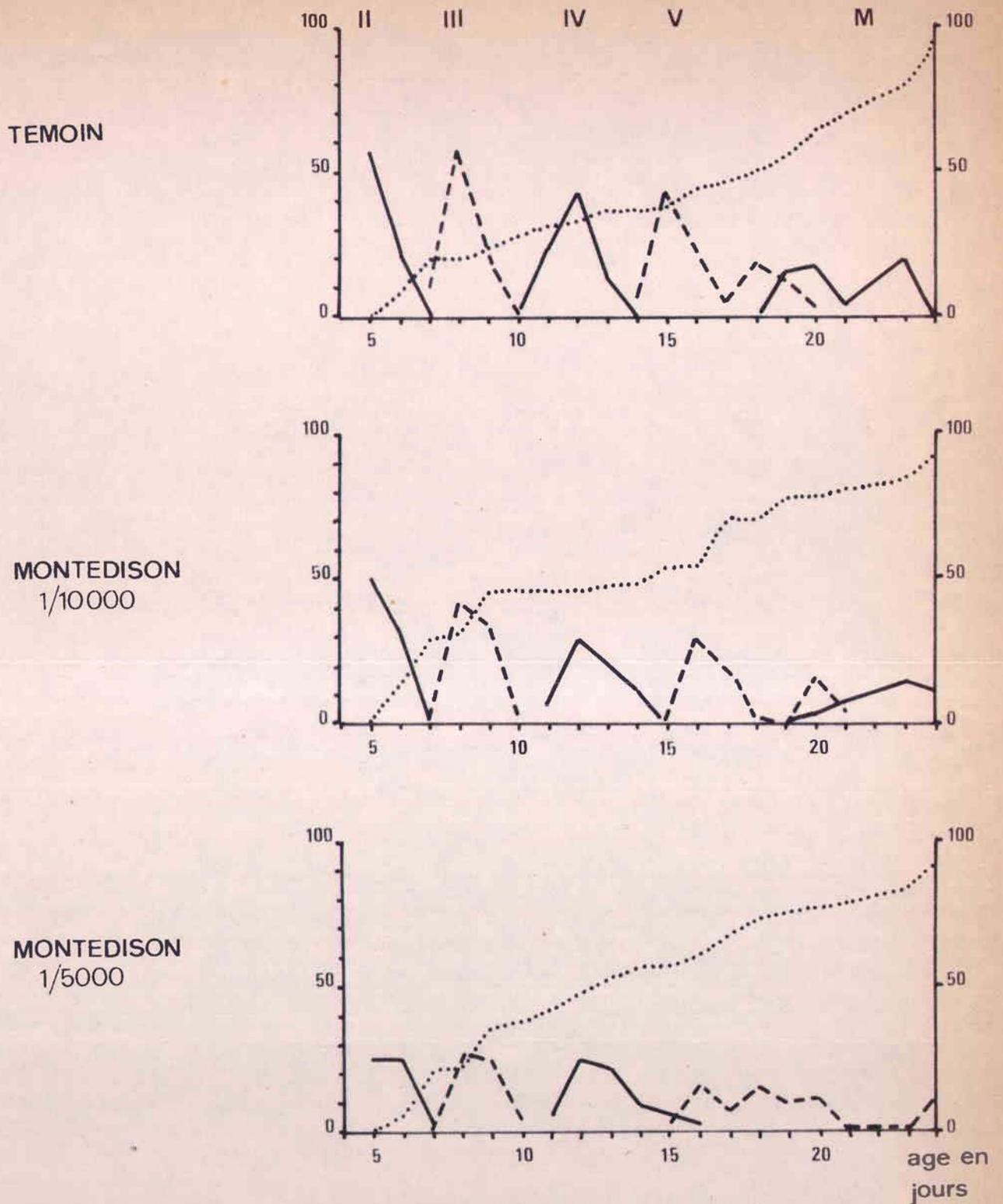


Fig. 6 : Pourcentages quotidiens de mue pour les différents stades de Portunus puber et pourcentages de survie totale pendant 20 jours. Comparaison des résultats obtenus pour l'effluent Montedison au 1/10 000 et 1/5 000 par rapport au témoin.

Les dilutions testées étaient toutes proches de la neutralité (pH = 6,3 à 7,4). Aussi les résultats obtenus permettent d'envisager l'intervention de l'hydroxyde ferrique dans le processus de la mue larvaire.

#### IV - ETUDE DE LA TOXICITE INDUITE

Nous nous sommes proposés, dans ce chapitre, de déterminer une éventuelle toxicité par accumulation des métaux contenus dans les rejets étudiés, aux différents niveaux d'une chaîne alimentaire.

En effet, on sait depuis la découverte du transfert et de l'accumulation d'éléments radio-actifs par les organismes marins, que les métaux lourds peuvent être assimilés par le plancton et le necton, sans qu'il y ait par la suite un retour intégral au milieu par excrétion. Dans ces conditions, les teneurs très faibles en certains métaux seraient susceptibles d'induire, chez les animaux placés en fin de chaîne trophique, une concentration élevée présentant un caractère toxique. Des expériences de ce type ont déjà été réalisées (AUBERT et coll., 1972).

Pour notre part, nous étudierons l'accumulation du fer et des métaux-traces contenus dans l'effluent Montedison. Les facteurs de concentration seront exprimés pour le phytoplancton, un crustacé planctonique et deux représentants du necton.

##### A - Accumulation de métaux par le phytoplancton

###### 1 - Accumulation du fer

Etant donné le rôle important du fer comme facteur limitant pour la croissance des diatomées et son pouvoir élevé d'adsorption sous sa forme hydratée, il était intéressant de connaître dans quelles proportions l'hydroxyde ferrique était "fixé" et "assimilé" par le phytoplancton.

Cependant, les teneurs rencontrées étant très fortes, nous nous sommes heurtés à des problèmes de séparation et de filtration déjà cités par d'autres auteurs. HAYWARD (1969), dans une étude sur le rôle du fer dans la croissance de Phaeodactylum tricornutum, mentionne la forme colloïdale (hydroxyde) prise par le fer présent dans le milieu ASP<sub>2</sub>, et son adsorption

sur les cellules. Il en résulte, après centrifugation, une majoration des teneurs trouvées par le dosage : l'hydroxyde ferrique présent dans le milieu est entraîné avec les diatomées alors que les autres métaux, sous forme ionique, restent dans le surnageant. Des constatations identiques ont été faites par DAVIES (1970).

L'examen de cultures contaminées de Dunaliella tertiolecta et de Phaeodactylum tricornutum, nous a conduit à faire les remarques :

- quelques minutes après dilution du rejet testé dans l'eau de mer enrichie en E. S. de PROVASOLI, le milieu se colore en jaune ocre, de façon relativement homogène. Environ 2 heures plus tard, un flocculat brun rouge commence à se déposer. Ce précipité reste à peu près constant en volume pendant la croissance des diatomées,

- après décantation des cultures et filtration du surnageant sur membrane "Millipore" 5  $\mu$  on recueille un liquide également coloré en jaune foncé,

- une deuxième filtration à 0,45  $\mu$  (limite de l'état particulaire) nous donne un filtrat limpide dont le dosage colorimétrique révèle des teneurs en fer inférieures à 0,10  $\mu\text{g/ml}$ . Les résultats sont exprimés dans le tableau 20 (page 35).

Il est manifeste que cette fraction restante caractérise le fer soluble ou complexé par l'EDTA présent dans le milieu.

En résumé nous avons, présentes dans les cultures, diverses formes de fer qui sont résumées dans le tableau 21 (page 35).

Nous avons donc tenté, pour l'ensemble des dosages, d'éliminer la plus grande partie du fer précipité et de ne garder que les cellules avec leur charge en fer absorbé et adsorbé. La méthode employée consistait essentiellement en filtrations sur membrane "Millipore".

./...

ESPECES CONTAMINEES	FER DOSE APRES FILTRATION à 0,45 µ
<u>Isochrysis galbana</u>	0,056 mg/1
	0,008 "
	0,028 "
	0,010 "
<u>Phaeodactylum tricornutum</u>	0,092 mg/1
	0,096 "
	0,052 "

Tableau 20 : Teneurs en fer dans les filtrats de cultures contaminées (Montedison 1/10000).

MILIEU	CELLULES
- Fer soluble sous forme ionique et complexé par l'EDTA.	- fer adsorbé, sous forme de $Fe(OH)_3$ .
- Fer particulaire : $Fe(OH)_3$ formant un précipité en équilibre avec une pseudo-solution colloïdale.	- Fer absorbé, sous forme complexée, ionique ou particulaire.

Tableau 21 : Différentes formes de fer présentes dans le milieu et les cellules d'une culture contaminée.

Nous avons donc tenté, pour l'ensemble des dosages, d'éliminer la plus grande partie du fer précipité et de ne garder que les cellules avec leur charge en fer absorbé et adsorbé. La méthode employée consistait essentiellement en filtrations sur membrane "Millipore".

a) Méthode générale de séparation des formes chimiques du fer

Pour chaque dosage les cultures ont été réalisées en deux exemplaires aussi bien pour le témoin que pour les échantillons contaminés.

La dilution testée a été l'effluent dilué au 1/10000 ce qui correspond à une teneur en fer égale à 4,4 mg/l.

L'expérience a porté sur le flagellé Dunaliella tertiolecta et le temps de culture a été fixé à 10 jours afin d'obtenir une densité cellulaire maximale. Chaque échantillon représentait 1 l de milieu renfermant environ  $10^6$  cellules par ml.

Le 11ème jour, les cultures étaient transvasées dans des éprouvettes graduées de même contenance. Après 30 mn de décantation le précipité d'hydroxyde ferrique se trouvait sédimenté dans un faible volume.

Le surnageant était alors récupéré et filtré sur "Millipore" 5  $\mu$ . Le filtre était ensuite lavé avec une solution isotonique à base de formiate d'ammonium 0,5 N amené à pH 5, par de l'acide citrique, afin de favoriser l'entraînement et la solubilisation du fer adsorbé sur les cellules.

Nous avons procédé à une deuxième filtration sur "Millipore" 0,45  $\mu$ , mais l'examen microscopique du filtrat nous a montré que dans ce cas on recueillait principalement de l'hydroxyde excédentaire et quelques cellules de faible diamètre.

L'essentiel de la culture était retenu au cours de la première filtration avec élimination du fer particulaire excédentaire.

Les dosages ont été effectués :

- sur les solutions de lavage,
- sur les filtres supportant les cellules.

./.....

b) Résultats et discussion

Les résultats obtenus sont exprimés en ppm de poids sec (non calciné) de Dunaliella tertiolecta. Les valeurs sont représentées dans le tableau 22 (page 37).

	TEMOINS	MONTEDISON 1/10 000
Fer cellulaire après lavage	2 056 1 658	4 402 5 989
Fer de la solution de lavage	-	2 122 3 038

Tableau 22 : Dosage du fer cellulaire soluble et adsorbé dans des cultures de Dunaliella tertiolecta. Les teneurs sont exprimées en ppm du poids sec.

Le fer dosé dans les cellules témoins provient essentiellement de l'assimilation du fer soluble présent dans le milieu de culture. On peut donc considérer que le dosage donne uniquement les teneurs en fer adsorbé.

Le fer dosé dans les solutions de lavage représente essentiellement le fer particulaire adsorbé sur les cellules.

En retranchant, des valeurs trouvées dans les cellules filtrées après lavage, les teneurs rencontrées dans les témoins, on peut avoir une estimation grossière de l'excédent de fer soluble dans les flagellés contaminés. Les calculs sont réalisés en fonction de la moyenne des valeurs du tableau 22.

Nous avons également calculé, pour l'effluent au niveau cellulaire, le rapport fer soluble/fer particulaire adsorbé.

Les résultats sont donnés dans le tableau 23 (page 38).

./.....

	MONTEDISON 1/10 000
Fer soluble excédentaire dans les cellules (ppm)	3 338
Fer soluble	1,29
Fer adsorbé	

Tableau 23 : Teneur moyenne en fer soluble excédentaire et rapport fer soluble/fer adsorbé par Dunaliella tertiolecta contaminé.

Les proportions relatives, de fer soluble et de fer adsorbé pour les cellules contaminées, ne permettent pas de mettre en évidence la prépondérance d'une forme d'assimilation.

Par ailleurs, nous avons effectué, à partir des teneurs moyennes en poids sec, l'étude des facteurs de concentration du fer intracellulaire d'une part, et adsorbé sur les parois cellulaires d'autre part, par rapport aux teneurs en fer des différents milieux.

Il est à noter que nos résultats, rapportés à des poids secs d'organismes, ne sont pas comparables à ceux des auteurs qui utilisent le poids frais. Sachant que le plancton frais contient environ 80 % d'eau, nos résultats seraient à diviser approximativement par 5 pour leur être comparables.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 24 (page 39).

Les facteurs de concentration du fer, chez Dunaliella tertiolecta, cultivée en milieu contaminé, sont faibles comparativement aux valeurs des témoins. Ces résultats accréditent l'existence de processus de régulation dans le métabolisme cellulaire du fer.

./...

		TEMOINS	MONTEDISON 1/10 000
Fer total du milieu (Effluent + ESP) = FM		0,68 (0 + 0,68)	5,8 (4,40 + 0,68)
Fer intracellulaire = FI		1 857	5 195
Facteur de concentration du fer intracellulaire = $\frac{FI}{FM}$		2 731	1 022
Fer adsorbé = FA		-	2 580
Facteur de concentration du fer adsorbé = $\frac{FA}{FM}$		-	508
Facteur de concentration du fer total = $\frac{FI + FA}{FM}$		2 731	1 530

Tableau 24 : Teneurs moyennes en fer, en ppm de poids sec, dans les cellules et le milieu et facteurs de concentration correspondants.

Remarquons toutefois que les teneurs en fer, dans le milieu océanique, sont plus faibles (0 à 0,04 ppm) que dans le milieu de culture utilisé (0,68 ppm). De ce fait le dosage du fer dans les cellules témoins ne tient pas compte des conditions rencontrées en mer où le fer constitue un facteur limitant la croissance phytoplanctonique.

Dans nos conditions d'expérience l'apport de sels ferriques, jusqu'à un certaine teneur, semble favoriser la multiplication cellulaire. En revanche d'éventuelles accumulations d'autres métaux sont à considérer ; c'est ce que nous allons envisager.

./.....

## 2 - Accumulation du zinc, du cuivre et du cadmium

Le procédé de filtration reste le même que pour le fer et les dosages ont été effectués directement sur les cellules récupérées, sans lavage préalable par une solution complexante.

La dilution d'effluent testée reste la même : 1/10000.

Si l'on tient compte des teneurs en différents métaux dosées dans l'effluent et le milieu E. S. de PROVASOLI (tableau 25 page 40) ainsi que des teneurs moyennes rencontrées dans l'eau de mer (tableau 26 page 40) on obtient, pour le rejet Montedison dilué et les cultures témoins, les concentrations données dans le tableau 27 (page 41).

	FER (ppm)	ZINC (ppm)	CUIVRE (ppm)	CADMIUM (ppm)
E. S. de PROVASOLI	340	20	0,15	0,15
MONTEDISON	44000	10	0,40	0,55

Tableau 25 : Teneurs en fer, zinc, cuivre et cadmium trouvées, par dosage spectrophotométrique d'absorption atomique, dans le milieu E. S. de PROVASOLI et l'effluent Montedison.

	FER (mg/l)	ZINC (mg/l)	CUIVRE (mg/l)	CADMIUM (mg/l)
EAU DE MER	0,01	0,01	0,003	0,00011

Tableau 26 : Teneurs moyennes en fer, zinc, cuivre et cadmium rencontrées dans l'eau de mer (d'après RILEY et SKIRROW, 1965).

./....

	ZINC (ppm)	CUIVRE (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	0,050	0,00330	0,00041
MONTEDISON 1/10 000	0,051	0,00334	0,00046

Tableau 27 : Teneurs en zinc, cuivre et cadmium dans les milieux de cultures témoins et contaminés.

Le dosage du zinc, du cuivre et du cadmium a été effectué sur les cultures contaminées ainsi que sur les cultures témoins. Les résultats sont regroupés dans le tableau 28 (page 41).

	ZINC (ppm)	CUIVRE (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	268	49,6	ND (*)
MONTEDISON 1/10 000	197	40,7	ND (*)

Tableau 28 : Teneurs en zinc, cuivre et cadmium, exprimées en ppm de poids sec, dans différentes cultures de Dunaliella tertiolecta.

(\*) ND = Teneurs inférieures au seuil de détection de l'appareil (0,25 ppm).

Les valeurs rapportées dans les tableaux 27 et 28 permettent de calculer les facteurs de concentration des trois métaux pour Dunaliella tertiolecta.

Les résultats, donnés dans le tableau 29 (page 42), ne montrent pas de différences entre les cultures témoins et les cultures contaminées.

	ZINC	CUIVRE
TEMOINS	5 360	15 030
MONTEDISON 1/10 000	3 863	12 186

Tableau 29 : Facteurs de concentration du zinc et du cuivre pour Dunaliella tertiolecta.

Ainsi, en dépit d'une majoration des conditions naturelles, nous n'observons lors de nos essais, aucune accumulation intracellulaire significative des quatre métaux expérimentés.

#### B - Accumulation de métaux par l'intermédiaire d'une chaîne pélagique

##### 1 - Mode opératoire

Nous avons recréé en laboratoire une chaîne alimentaire simple permettant d'évaluer dans des conditions volontairement exagérés, à trois niveaux essentiels du monde marin, la concentration de plusieurs métaux.

Cette "chaîne pélagique" est composée de la façon suivante :

a) Echelon phytoplanctonique : Différentes espèces sont cultivées, d'une part en eau de mer enrichie par du milieu E. S. de PROVASOLI diluant le rejet au 1/5000 et 1/10000, et d'autre part en eau de mer enrichie seulement en milieu E. S. de PROVASOLI.

Ont été choisies : Phaeodactylum tricornutum, Dunaliella tertiolecta, Gyrosigma spencrui et Platymonas suesica.

Les cultures étaient conduites dans des barils de 25 l comportant une importante aération. Elles étaient utilisées au bout de 10 à 20 jours.

./.....

b) Echelon zooplanctonique : Il est représenté par Artemia salina, petit crustacé de l'ordre des Anostracés, sous-classe des Branchiopodes.

Les élevages étaient pratiqués en aquarium de 30 l avec une concentration en artémies adultes atteignant 100 individus par litre.

Chaque aquarium recevait journallement 2 l de cultures témoins ou contaminées.

Après 45 jours, les artémies sont regroupées en lots de 100 à 200 individus et préparées en vue de la minéralisation.

c) Echelon nectonique : Deux animaux composent l'échelon terminal : un décapode nageur et un poisson :

- Palaemonetes varians dont les individus isolés recevaient journallement 10 artémies chacun. Nous avons pu nourrir ainsi 20 crevettes contaminés et 10 animaux témoins pendant 56 jours.

- Gasterosteus aculeatus (épineche) : 60 individus, par aquarium de 30 litres, recevaient journallement pendant un mois 180 artémies adultes témoins ou contaminées. Un appoint alimentaire, constitué de daphnies séchées, était adjoint afin d'éviter des carences.

L'ensemble des individus était pesé en début et en fin d'expérimentation. Les poissons morts étaient prélevés et pesés afin de corriger les estimations sur la perte ou le gain de poids total.

## 2 - Résultats et discussion

### a) Artemia salina

Dans une première expérimentation, nous avons nourri des artémies avec des cultures phytoplanctoniques réalisées dans une dilution au 1/5000 de l'effluent Montedison.

Nous avons dosé le fer et le cadmium contenus dans ces crustacés. Les résultats, exprimés en ppm du poids sec, sont donnés dans le tableau 30 (page 44).

./.....

	FER (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	480	9,6
MONTEDISON 1/5000	1 660 2 110	19,2

Tableau 30 : Teneurs en fer et cadmium dans les deux séries de P. varians *A. sabina*

Dans une seconde expérimentation nous avons testé deux dilutions : 1/5000 et 1/10000. Nous avons dosé le fer, le zinc, le cuivre et le cadmium. Les résultats, toujours exprimés en ppm du poids sec, sont regroupés dans le tableau 31 (page 44).

	FER (ppm)	ZINC (ppm)	CUIVRE (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	760	108	34,7	13,0
MONTEDISON 1/10000	1785	59	78,5	33,3
MONTEDISON 1/5000	2635	81	21,6	12,1

Tableau 31 : Teneurs en fer, zinc, cuivre et cadmium dans les trois séries de P. varians *A. sabina*.

Il ressort de ces deux expériences que les animaux contaminés, par rapport aux témoins, ne concentrent pas le fer, le zinc, le cuivre et le cadmium au-delà d'un facteur égal à 5.

./.....

En ce qui concerne le fer, l'augmentation décelable de sa teneur dans les tissus d'artémies peut être imputée à deux processus,

- l'assimilation par les animaux de l'hydroxyde ferrique,
- le dosage du contenu digestif, composé de phytoplancton contaminé mais aussi d'hydrate de fer.

En effet, il est évident que, lors du prélèvement des échantillons (20 à 30 mg de poids sec soit 100 à 200 artémies), les individus n'étaient pas à jeun. Le régime alimentaire des artémies peut être considéré sous deux angles différents :

- d'une part la filtration des particules en suspension et, par conséquent, des diatomées vivantes avec du fer intracellulaire ainsi que de l'hydroxyde ferrique adsorbé,
- d'autre part la consommation des particules fixées sur les parois de l'aquarium. En ce qui concerne le fond, il s'agit essentiellement de particules inertes constituées par des boulettes fécales et de l'hydrate de fer déposé.

Ainsi lorsqu'on utilise des animaux qui ne sont pas à jeun, les teneurs trouvées sont nettement supérieures aux taux réels de fer contenu dans les tissus d'artémies.

C'est pourquoi nous avons procédé à un dosage comparatif entre artémies contaminées et minéralisées immédiatement après le prélèvement et artémies contaminées remises en milieu sain pendant 3 jours, jusqu'à l'expulsion complète du contenu du tube digestif.

Les minéralisations ont alors porté sur 6 lots d'environ 100 animaux chacun :

- 1 lot d'artémies témoins,
- 1 lot d'artémies contaminées (1/5000) n'ayant pas été soumises au jeûne,
- 4 lots d'artémies contaminées ayant séjourné pendant 3 jours en milieu non pollué.

Les résultats, obtenus en ppm du poids sec, sont donnés dans le tableau 32 (page 46).

•/••••

	F E R (ppm)
TEMOINS	571
MONTEDISON 1/5000 sans jeûne	2 647
MONTEDISON 1/5000 avec jeûne	909 769 588 1 111

Tableau 32 : Teneurs en fer des divers lots d'A. salina.

Il en résulte qu'il existe une influence certaine du contenu du tractus digestif sur les dosages du fer chez les artémies contaminées. On peut donc présumer que le facteur réel de concentration intra-tissulaire du fer est beaucoup plus faible que ne le laissait supposer une expérimentation sommaire.

b) Palaemonetes varians

La dilution de base pour cette chaîne à crustacé était l'effluent Montedison au 1/5000.

Seuls le fer et le cadmium ont été dosés ; les résultats, en ppm de poids sec sont exprimés dans le tableau 33 (page 46).

	F E R (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	107 70	2,3 2,6
MONTEDISON 1/5000	128 104 151	1,6 7,8 2,5

Tableau 33 : Teneurs en fer et cadmium dans les différents lots de P. varians.

./....

Ainsi il apparaît donc que les P. varians contaminés n'accumulent pas, de façon significative, le fer et le cadmium.

c) Gasterosteus aculeatus

Après 30 jours d'expérimentation, les épinoches témoins présentent une légère augmentation du poids total, de même que les individus contaminés à partir de la dilution au 1/10000 de l'effluent.

Au 1/5000, on note en revanche une perte de poids.

Les résultats figurent dans le tableau 34 (page 47).

	TEMOINS	MONTEDISON 1/10000	MONTEDISON 1/5000
Poids total en début d'expérience (g)	12,80	13,67	12,75
Variation du poids après 30 jours (g)	+ 0,015	+ 0,294	- 0,096

Tableau 34 : Variation de poids des lots de G. aculeatus.

Nos dosages ont porté sur le fer, le zinc, le cuivre et le cadmium. Les résultats, exprimés en ppm du poids sec, figurent dans le tableau 35 (page 48).

Des dosages ont également été effectués sur la nourriture d'appoint (daphnies séchées) apportée aux épinoches. Ils ont donné les résultats suivants :

Fer .....	2 091 ppm
Zinc .....	51 ppm
Cuivre .....	0 ppm
Cadmium .....	0 ppm

./....

	FER (ppm)	ZINC (ppm)	CUIVRE (ppm)	CADMIUM (ppm)
TEMOINS	209	188	6,8	2,5
	231	189	12,5	-
MONTEDISON 1/10 000	213	210	9,2	2,6
	241	173	6,2	-
MONTEDISON 1/5 000	279	189	6,5	2,3
	249	218	13,4	-

Tableau 35 : Teneurs en fer, zinc, cuivre et cadmium des différents lots de G. aculeatus.

On peut donc considérer comme négligeable l'apport en métaux lourds de la nourriture d'appoint. Seule la teneur en fer des daphnies est quelque peu élevée (2 091 ppm). Mais la part, prise par cette nourriture d'appoint dans l'alimentation des animaux, est si faible que l'apport en métaux lourds dans le milieu est négligeable.

Par ailleurs, il est à noter que les animaux témoins recevaient également ce complément alimentaire.

On remarque donc, de même que pour Palaemonetes varians, une absence d'accumulation décelable, du fer et des trois autres métaux testés, au niveau du 3ème échelon des chaînes pélagiques utilisées. L'ordre de grandeur des teneurs rencontrées, pour les espèces nectoniques, est comparable aux résultats trouvés par d'autres auteurs (JAULMES et HAMELLE, 1971 ; SEGAR et coll., 1971).

### 3 - Conclusion

On n'a donc enregistré, dans les expériences décrites plus haut, que des résultats négatifs. Il convient cependant de remarquer qu'une durée d'un mois d'expérimentation représente un court moment dans la vie d'organismes nectoniques.

./.....

En effet, des expériences canadiennes rapportent l'action de solutions d'hydroxyde ferrique totalement neutralisées sur des animaux dulçaquicoles (SYKORA et coll., 1972 a ; 1972 b ; SMITH et coll., 1973). Ces auteurs ont mis en évidence l'incidence des particules ferriques sur la croissance lors d'expériences portant sur une année. Bien que des expérimentations portant sur des dilutions faibles d'effluent, comme celles que nous avons testées, ne montrent aucune accumulation pour les différents métaux, il reste néanmoins que le fer peut transiter sous forme d'hydroxyde dans le tractus digestif de planctontes. Cependant, la durée de ce transit reste très courte et n'apporte qu'une dispersion supplémentaire des rejets puisque l'on ne trouve pas d'accumulation dans les tissus.

Ceci semble confirmer l'hypothèse d'un recyclage du fer particulaire dans l'océan, tel que le conçoit COOPER (1935).

#### V - CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Au cours de cette étude nous avons délibérément fixé un plan de travail se rapportant uniquement aux effets biologiques de l'effluent Montedison.

L'évaluation de la toxicité à court terme nous a amené à tester l'influence du rejet sur un certain nombre d'espèces marines. Il s'en suit une certaine disproportion dans l'importance des chapitres ; en effet, avant d'entreprendre l'étude de la toxicité sur le développement larvaire ou de l'accumulation de métaux le long d'une chaîne pélagique, il était nécessaire de fixer d'une part les seuils subléthaux, et d'autre part les facteurs prépondérants intervenant dans le caractère nocif des rejets testés.

Outre la détermination des pourcentages de mortalité ou, selon le cas, de réduction de croissance, nous avons procédé à des examens biologiques journaliers pendant toute la durée des expérimentations, c'est-à-dire pour des périodes de 4 à 8 jours en ce qui concerne la toxicité directe, de 15 à 20 jours dans le cas des développements larvaires, et enfin de 1 à 2 mois pour les chaînes alimentaires.

./.....

Les concentrations en métaux dans les tissus des organismes ont fait l'objet de nombreux dosages utilisant une méthode analytique aisément reproductible.

La synthèse des constatations relevées au cours de cette étude nous amène à formuler un certain nombre de conclusions :

1 - Au niveau de la toxicité directe sur différents organismes benthiques et nectoniques il apparaît que l'acidité a un rôle primordial ; il faut cependant souligner que certains animaux parviennent à s'isoler du milieu hostile et résistent.

Parmi les organismes planctoniques Artemia salina accuse l'influence de l'acidité du rejet mais semble démontrer le rôle de l'hydrate de fer en tant que gêne physique.

Les expériences de toxicité aiguë sur les larves de Carcinus maenas et de Palaemon serratus confirment l'importance de l'acidité dans les mortalités constatées. Cependant ces essais mettent en relief le rôle des particules d'hydroxyde ferrique puisque les mêmes effets se retrouvent pour l'effluent dilué ainsi que pour se référence- faiblement acide- en fer.

L'influence des particules d'hydroxyde ferrique, sur le comportement de Mytilus edulis, a été étudié par WINTER (1972). La filtration des floculats d'hydrate de fer provoque une augmentation de la production de pseudofèces et, corrélativement, une perte de poids des individus due à une élévation de la sécrétion de mucus. En dehors de ces effets mécaniques, aucun effet toxique aigu du fer n'a été mis en évidence. L'hypersécrétion de mucus a été également notée chez les Polychètes tubicoles (RACHOR, 1972).

Les réductions de croissance observées, pour les espèces phyto-planctoniques, seraient la résultante de 3 facteurs :

- la valeur initiale du pH,
- la vitesse de neutralisation de l'acidité,
- la charge en sulfate ferreux aux fortes concentrations.

Cependant, aux plus fortes dilutions de l'effluent Montedison, le fer -facteur limitant la croissance dans le milieu naturel- pourrait avoir une action favorable.

2 - En ce qui concerne les effets sur le développement larvaire de Palaemon serratus et de Portunus puber nous constatons dans l'ensemble, à des doses subléthales, un décalage et un allongement des périodes de mues par rapport aux témoins.

Les effets, constatés à la fois pour l'effluent et sa référence en fer, pourraient être dûs au déséquilibre ionique provenant de l'excès d'hydrate de fer.

L'examen des individus de A. salina, C. maenas et P. puber montre une forte adsorption des particules ferriques sur leurs téguments. Cet état doit probablement gêner l'animal au moment de se défaire de son exuvie.

Il est à souligner que toutes ces perturbations ont été observées pour des acidités réduites (pH = 6,3 à 7,4) ce qui permet d'envisager l'intervention de l'hydroxyde ferrique dans le processus de la mue larvaire.

Des résultats similaires sur les larves de harengs ont été trouvés par KINNE et ROSENTHAL (1967) en ce qui concerne un effluent similaire ; ces auteurs ont observé des modifications du développement, du comportement alimentaire et de la motilité des larves.

Des effets comparables ont été notés à l'égard de Gobius pictus et de Solea solea par KINNE et SCHUMANN (1968).

Avant de conclure sur les résultats de la toxicité de l'effluent Montedison pour le développement larvaire, il semble intéressant de citer les travaux de GRICE et coll. (1973). En effet, à la suite de rejets en Baie de New York de résidus identiques de la fabrication du dioxyde de titane, des études en laboratoire, portant sur des copépodes et des échantillonnages de zooplancton en mer, sont venues compléter les résultats de VACCARO et coll. (1972).

En ce qui concerne les essais en laboratoire, les dilutions de l'effluent étaient de 1/500, 1/1000 et 1/3000, pour des pH respectivement de 3,0 , 5,5 et 6,5. Les copépodes testés (Calanus finmarchicus, Temora longicornis et Pseudocalanus sp.) sont très représentatifs du plancton

marin. Les auteurs ont procédé à des tests de toxicité à court terme simulant les valeurs de pH rencontrées par le zooplancton dans le sillage du navire citerne. Ils ont montré, qu'en dépit d'un comportement perturbé au moment de l'exposition au rejet concentré, les individus testés ne montraient plus aucun trouble aussitôt après la dilution initiale.

Dans une expérimentation de plus longue durée (48 heures), pour des concentrations constantes de l'effluent, seules les dilutions 1/400 (pH = 2,8) à 1/4000 (pH = 6,8) provoquaient une certaine mortalité ; les auteurs précisent toutefois que ces dilutions n'existent que pendant un temps très court dans le milieu naturel.

Pour des expériences à long terme (18 jours), ces auteurs ont trouvé une inhibition de la reproduction à la dilution 1/4000 ; au 1/5000 seuls les nauplii étaient affectés. Les adultes ne montraient aucun trouble en dépit des flocons d'hydroxyde ferrique présents dans leur tractus digestif.

Enfin l'utilisation, d'une part de solutions acides de référence et d'autre part d'effluent préalablement neutralisé avec de la soude, a montré que seule l'acidité intervenait dans la mortalité observée.

L'examen des planctontes, prélevés dans la zone de rejet, confirme les résultats obtenus en laboratoire. Les espèces trouvées correspondent à celles enregistrées lors d'études préalables dans cette région. Par ailleurs les observations ne montrent aucun abaissement numérique des populations ou de la biomasse des zones polluées par rapport à des zones témoins.

Enfin aucune tendance significative des indices de diversité ne vient suggérer un effet inhibiteur de la décharge vis-à-vis des communautés planctoniques présentes.

Nos conclusions confirment l'ensemble de ces résultats tant au niveau de la toxicité directe qu'à celui de la toxicité à l'égard du développement larvaire.

Ainsi, pour des pH égaux ou inférieurs à 5,5, lorsque la concentration en rejet reste constante, nous avons pu mettre en évidence une certaine mortalité chez Artemia salina.

Par la suite, nous avons vu que le développement des stades larvaires de décapodes peut être inhibé par blocage de la mue.

Enfin, l'utilisation de références acides nous a montré le rôle primordial du pH dans les expériences de toxicité directe.

Notons néanmoins que, si les adultes d'A. salina ne présentaient aucun trouble après absorption d'hydroxyde ferrique de même que les copépodes adultes de GRICE et coll., il semble que les stades larvaires de Palaemon serratus souffrent du déséquilibre ionique dû à la seule présence du fer, puisque les références fer aux mêmes dilutions que les rejets testés entraînent elles aussi un décalage de la période de mue.

Il serait donc souhaitable de poursuivre des investigations dans ce domaine, à savoir : le rôle de l'hydroxyde ferrique à long terme, dans les anomalies du développement larvaire.

3 - Enfin nous n'avons pas mis en évidence, dans nos conditions expérimentales, une quelconque toxicité induite le long de deux chaînes pélagiques :

- phytoplancton - artémies - crevettes,
- phytoplancton - artémies - épinoches.

A aucun niveau de ces maillons il n'est apparu une accumulation notable du zinc, du cuivre et du cadmium.

Les artémies ne semblent pas accumuler de fer complexé ou soluble, mais servent de facteurs de transfert, si l'on considère la charge en  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  des contenus intestinaux. Ces résultats confirment les hypothèses de COOPER (1935), au sujet du cycle du fer dans le milieu marin : le phytoplancton serait absorbé et excrété par le zooplancton pratiquement sans assimilation du fer. De fait, l'observation des artémies montre des boulettes

fécales chargées de fer particulaire ; les expériences de "décontamination" ne font que vérifier cette constatation.

Ainsi, l'élément majeur de ces rejets, le sulfate ferreux, reste probablement sous forme particulaire de  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  après hydrolyse, et ne subit qu'un transfert par l'intermédiaire des organismes planctoniques, sans phénomènes de concentration.

Ce comportement différencie le fer de certains métaux connus pour leurs facteurs élevés d'accumulation par le phytoplancton et le zooplancton.

Remarquons toutefois que les traces des trois métaux étudiés sont contenues dans l'effluent en quantités ne dépassant guère quelques ppm. Par la suite elles sont diluées jusqu'à des teneurs ne modifiant guère celles rencontrées naturellement dans le milieu marin.

En ce qui concerne l'influence de l'acidité et des **traces de métaux**, des dilutions immédiates supérieures au 1/10000 sont souhaitables et même indispensables pour écarter tout risque de toxicité directe vis-à-vis des biocénoses marines.

---

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUBERT (M.), BITTEL (R.), LAUMOND (F.), ROMEO (M.), DONNIER (B.) et BARELLI (M.), 1972. - Utilisation d'une chaîne trophodynamique du type pélagique pour l'étude des transferts des pollutions métalliques. - Rev. int. Océanogr. méd., 28, p. 27-52.
- COOPER (L.H.N.), 1935. - Iron in the sea and in marine plankton. - Proc. roy. Soc., London, 118 B, p. 419-438.
- CONNOR (P.M.), 1971. - The acute toxicity of heavy metals to the larvae of some marine animals. - CM. 1971/K 16 : Shellfish and Benthos Committee, Ref : E.
- DAVIES (A.G.), 1970. - Iron, chelation and the growth of marine phytoplankton. I - Growth kinetics and chlorophyll production in cultures of the euryhaline flagellate Dunaliella tertiolecta under iron-limiting conditions. - J. mar. biol. Assoc. U.K., 50, p. 65-86.
- GRICE (G.D.), WIEBE (P.H.) et HOAGLAND (E.), 1973. - Acid-iron waste as a factor affecting the distribution and abundance of zooplankton in the New York Bight. I - Laboratory studies on the effects of acid waste on copepods. - Estu. Coast. mar. sci., 1, p. 45-50.
- HAYWARD (J.), 1969. - Studies on the growth of Phaeodactylum tricornutum. V - The relation ship to iron, manganese and zinc. - J. mar. biol. Assoc. U.K., 49.
- JAULMES (P.) et HAMELLE (G.), 1971. - Présence et taux des oligo-éléments dans les aliments et les boissons de l'homme. - Ann. Nutr. Alim., 25 (6), p. 133 - 203.
- KAYSER (H.), 1970. - Experimental-ecological investigations on Phaeocystis poucheti (Haptophyceae) : cultivation and waste water test. - Helgoländer wiss. Meeres., 20, p. 195-212.
- KINNE (O.) et ROSENTHAL (H.), 1967. - Effects of sulfuric water pollutants on fertilization, embryonic development and larvae of the herring, Clupea harengus. - Mar. Biol., 1, p. 65-83.
- KINNE (O.) et SCHUMANN (K.H.), 1968. - Biologische Konsequenzen schwefelsäure und eisensulfathaltiger Industrieabwässer. Mortalität junger Gobius pictus und Solea solea. - Helgoländer wiss. Meeres., 17, p. 141-155.
- LEROY (C.), 1972. - Rapport interne I.S.T.P.M. Rejets en Méditerranée de résidus de fabrication d'oxyde de titane. Usine italienne Montedison de Scarlino.
- PROVASOLI (L.), McLAUGHLIN (J.J.A.) et DROOP (M.R.), 1957. - The development of artificial media for marine algae. - Arch. Mikrobiol., 25, p. 392-428.

- RACHOR (E.), 1972. - On the influence of industrial waste containing  $H_2SO_4$  and  $FeSO_4$  on the bottom fauna off Helgoland (German bight). - F. A. O. 4<sup>th</sup> Technical conference on marine Pollution and its effects on living resources and fishing. Rome, Italie, 9-18 décembre 1970 FIR : MF/70/E 101, 25 novembre 1970.
- RILEY (J.P.) et SKIRROW (G.), 1965. - Analytical chemistry of sea-water, in : Chemical Oceanography ed. RILEY et SKIRROW, 2, p. 295-424.
- SEGAR (D.A.), COLLINS (J.D.) et RILEY (J.P.), 1971. - The distribution of the major and some minor elements in marine animals, part II. - J.mar. biol. Assoc. U.K., 51, p. 131-136.
- SMITH (E.J.), SYKORA (J.L.) et SHAPIRO (M.A.), 1973. - Effect of lime neutralized iron hydroxide suspensions on survival, growth and reproduction of the fathead minnow (Pimephales promelas). - J. Fish. Res. Bd Canada, 30, p. 1147-1153.
- SYKORA (J.L.), SMITH (E.J.), SHAPIRO (M.A.) et SYNAK (M.), 1972 a. - Chronic effects of ferric hydroxyde on certain aquatic animals. - Symposium on coal mine drainage research 4e Abstracts (Pittsburgh, April 26-27 1972) 11 p.
- SYKORA (J.L.), SMITH (E.J.) et SYNAK (M.), 1972 b. - Effect of lime neutralized iron hydroxide suspensions on juvenile brook trout (Salvelinus fontinalis, Mitchill). - Water Res., Pergamon Press, 6, p. 935-950.
- VACCARO (R.F.), GRICE (G.D.) et ROWE (G.T.), 1972. - Acid-iron waste disposal and the summer distribution of standing crop in the New York bight. - Water Res., 6, p. 231-256.
- WINTER (J.E.), 1972. - Long terme laboratory experiment on the influence of ferric hydroxyde flasks on the filter-feeding behavior, growth, iron content and mortality in Mytilus edulis L. - Mar. Poll. and sea Life, F. A. O., p. 392-396.
- WISELY (B.) et BLICK (R.A.P.), 1967. - Mortality of marine invertebrate larvae in mercury, copper and zinc solution. - Austr. J. mar. freshw. Res., 18, p. 63-72.