

Molypdologie

René ROBERT

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE  
DES PÊCHES MARITIMES

J. moll. Stud. (1983), Suppl. 12A, 60-68

63, bd Deganne - 33120 ARCACHON (France) British Symposium on Molluscs

## ESTIMATION DE LA TENEUR EN ACÉTATE DE TRIBUTYLE-ÉTAÏN DANS L'EAU DE MER, PAR UNE MÉTHODE BIOLOGIQUE

E. HIS, D. MAURER ET R. ROBERT

Institut Scientifique et Technique des Pêches Maritimes  
63 Bd Deganne, 33120 Arcachon, France

### RÉSUMÉ

L'acétate de tributyle-étain, composé actif de certaines peintures antisalissures, représente un danger certain pour les zones conchylicoles de captage (E. HIS et R. ROBERT, 1980 et R. ROBERT et E. HIS, 1981). Les méthodes chimiques actuelles ne sont pas assez sensibles pour permettre le dosage de ce produit dans l'eau de mer, au seuil de toxicité pour les larves d'huîtres.

Une échelle d'action pour douze concentrations comprises entre 100 µg/l. et 0,02 µg/l., sur les véligères de *Crassostrea gigas* est proposée. Elle permet d'évaluer le degré de contamination de l'eau de mer d'un port de plaisance et son évolution.

### ABSTRACT:

Tributyl tin acetate, an active compound of certain antifouling paints, represents a real danger for oyster farming areas of catching spat (E. HIS et R. ROBERT, 1980 and R. ROBERT et E. HIS, 1981). Current chemical methods are not sensitive enough to guarantee the proportions of this product at the toxicity limits of oyster larvae in sea water. It is proposed that a table of effects should be constructed consisting of concentrations of between 100 µg/l. and 0,02 µg/l. on the veligeres of *Crassostrea gigas*. This table enables the degree of pollution and its evolution to be evaluated in the sea water of a harbour.

### 1 — INTRODUCTION:

Le bassin d'Arcachon se caractérise depuis quelques années par des anomalies tant au niveau de la calcification des huîtres qu'au niveau de la reproduction, les premières étant particulièrement marquées au voisinage des zones portuaires.

Nous avons suspecté l'action des sels organométalliques de l'étain (acétate de tributyle-étain: TBT) qui entrent dans la composition de certaines peintures antisalissures. De même FERAL (1982) constate que les anomalies du tractus génital observées chez certains gastéropodes "peuvent être la conséquence d'une pollution liée à la navigation", et

SMITH (1981) met en cause plus précisément les peintures antisalissures dans l'apparition de ces phénomènes.

En ce qui concerne la reproduction naturelle, nous avons mis en évidence dès 1980, le danger que constitue l'utilisation du TBT pour les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas*, (HIS et ROBERT, 1980 et ROBERT et HIS, 1981) et posé le problème de son interdiction en zone conchylicole.

Des expériences menées par ALZIEU et Coll. (1980) au cours de l'été 1981, ont permis de constater que le TBT "peut à très faibles doses, être une cause des anomalies de la calcification chez l'huître".

Ces faits conjugués ont conduit les pouvoirs publics à interdire l'utilisation de ces peintures antisalissures.

Nous avons cherché dans le présent travail, à déterminer le seuil de sensibilité des oeufs et des larves de *C. gigas* au TBT.

Par ailleurs, les effets pour des concentrations connues comprises entre 100 µg/l. et 0,02 µg/l. sont comparés à ceux qui ont été obtenus en été 1981 et au printemps 1982, avec de l'eau de surface prélevée dans le port de plaisance d'Arcachon soit avant et après les mesures d'interdiction des peintures à base d'organostanniques. En effet, la détection de ces composés dans l'eau de mer est, à l'heure actuelle, trop peu sensible, pour permettre les dosages au taux d'action de ces produits sur les organismes vivants.

### 2 — PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les techniques utilisées ont été exposées antérieurement (HIS et ROBERT, 1981; ROBERT, HIS et MAURER (1982), sous presse). Nous ne ferons qu'en rappeler les grandes lignes.

On provoque la maturation des huîtres dans des bacs en circuit fermé à température de 20° ± 1°C. Les émissions sont obtenues par choc thermique (passage répétés de 28°C à 15°C). Les élevages, en double exemplaire, sont menés dans des béciers stériles contenant deux litres d'eau de mer fraîchement filtrée sur membrane SARTORIUS de porosité 0,2 microns, à la température de 24°C. L'eau de mer est changée 24 heures après les fécondations, qui sont réalisées en présence des différentes concentrations de TBT, puis

tous les deux jours, jusqu'à la fin des observations (12ème jour). Chaque changement d'eau s'accompagne d'un renouvellement du micropolluant.

Les vèligères élevées à raison de 8000 individus/litre sont nourries selon les données de HELM et MILLICAN (1977) à l'aide de cultures d'*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* et *Tetraselmis suecica*.

Les observations portent sur les pourcentages de larves D formées, de mortalités et de larves anormales, selon les critères définis par LE PENNEC et LE ROUX (1979), CALABRESE et Coll. (1977); les observations sont effectuées sur 200 larves par élevage.

La croissance des vèligères est étudiée pendant douze jours, par mensuration tous les 2 jours de la hauteur de 50 vèligères par élevage, à 1,5 microns près, sur clichés photographiques; les moyennes sont calculées avec un intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%.

### 3 — RESULTATS

#### 3.1 Rappel des résultats antérieurs.

Ils concernent l'action du TBT sur l'embryogénèse et sur les larves D de *Crassostrea gigas* à des concentrations comprises entre 100 et 1 µg/l, cette dernière valeur se situant déjà en dessous des possibilités de détection des techniques analytiques actuelles.

A un microgramme par litre, toutes les larves D formées en présence du produit sont anormales; le taux de mortalité est de 100% en six jours.

Au-dessus de cette valeur, les larves D ne sont jamais obtenues; les trochophores observées sont toutes aberrantes (3 et 5 µg/l); à 10 µg/l., les fécondations se produisent et 80% des oeufs se

segmentent; mais on n'obtient que de très rares trochophores, toutes monstrueuses. Le nombre d'oeufs segmentés diminue ensuite, de 60% (25 µg/l.) à 1% (50 µg/l.). A 100 µg/l. les fécondations sont inhibées.

Précisons enfin que l'immersion d'ovules pendant une demi-heure seulement dans une solution de 50 µg/l. de TBT, inhibe l'embryogénèse.

#### 3.2. Recherche de la limite de tolérance des larves: nouvelles observations.

Les concentrations suivantes ont été testées: 0 µg/l. (témoins), 1 µg/l., 0,5 µg/l., 0,2 µg/l., 0,1 µg/l., 0,05 µg/l., 0,02 µg/l. Dans tous les cas, les larves D ont été obtenues en 24 heures. Excepté pour la valeur la plus basse, elles présentent des anomalies de la masse viscérale (excroissances débordant des valves fermées) identiques à celles que décrivent CALABRESE et Coll. (1977) qui affectent surtout les élevages à 1 et 0,5 µg/l. et disparaissent le second jour. Ne persistent que les anomalies au niveau de la vèliconche ou du vélum (tableau 1).

De même le régime trophique des vèligères est perturbé: le tractus digestif est peu ou pas coloré, dès le second jour à 1 µg/l., puis plus tardivement aux autres concentrations (4ème jour à 0,5 et 0,2 µg/l.; sixième jour à 0,1 et 0,05 µg/l.) certaines larves échappant au phénomène. Seuls les élevages à 0,02 µg/l. ne sont que très faiblement affectés le sixième jour.

Les mortalités se stabilisent au-dessous de 10% dans les élevages témoins et à la plus faible concentration (tableau 2). Dans tous les autres cas, elles sont totales ou subtotaux du 6ème au 8ème jour (1 et 0,5 µg/l.) et au 12ème.

Tableau 1 — Pourcentages de larves anormales. Les anomalies (m.v.) observées le premier jour concernent la masse viscérale, (présence d'excroissances quand les valves sont fermées). Ce type d'anomalie disparaît le second jour. Les valeurs mentionnées ultérieurement concernent soit la vèliconche, soit le vélum; elles sont restées au même niveau dans tous les cas à partir du deuxième jour.

- + + + perturbation marquée du régime trophique des vèligères.

- + faible perturbation du régime trophique des vèligères.

Âge des larves exprimé en jours	Concentrations exprimées en µg/l.						
	0	1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02
1	3	10 (m.v.)	95 (m.v.)	15 (m.v.)	11 (m.v.)	14 (m.v.)	4
2	3	100 + + +	18	10	11	5	4
4	3	100 + + +	18	10	11	5	4
6	3	-	18 + + +	10 + + +	11 + + +	5 +	4 +
8	3	-	-	+ + +	+ + +	+ + +	4 +

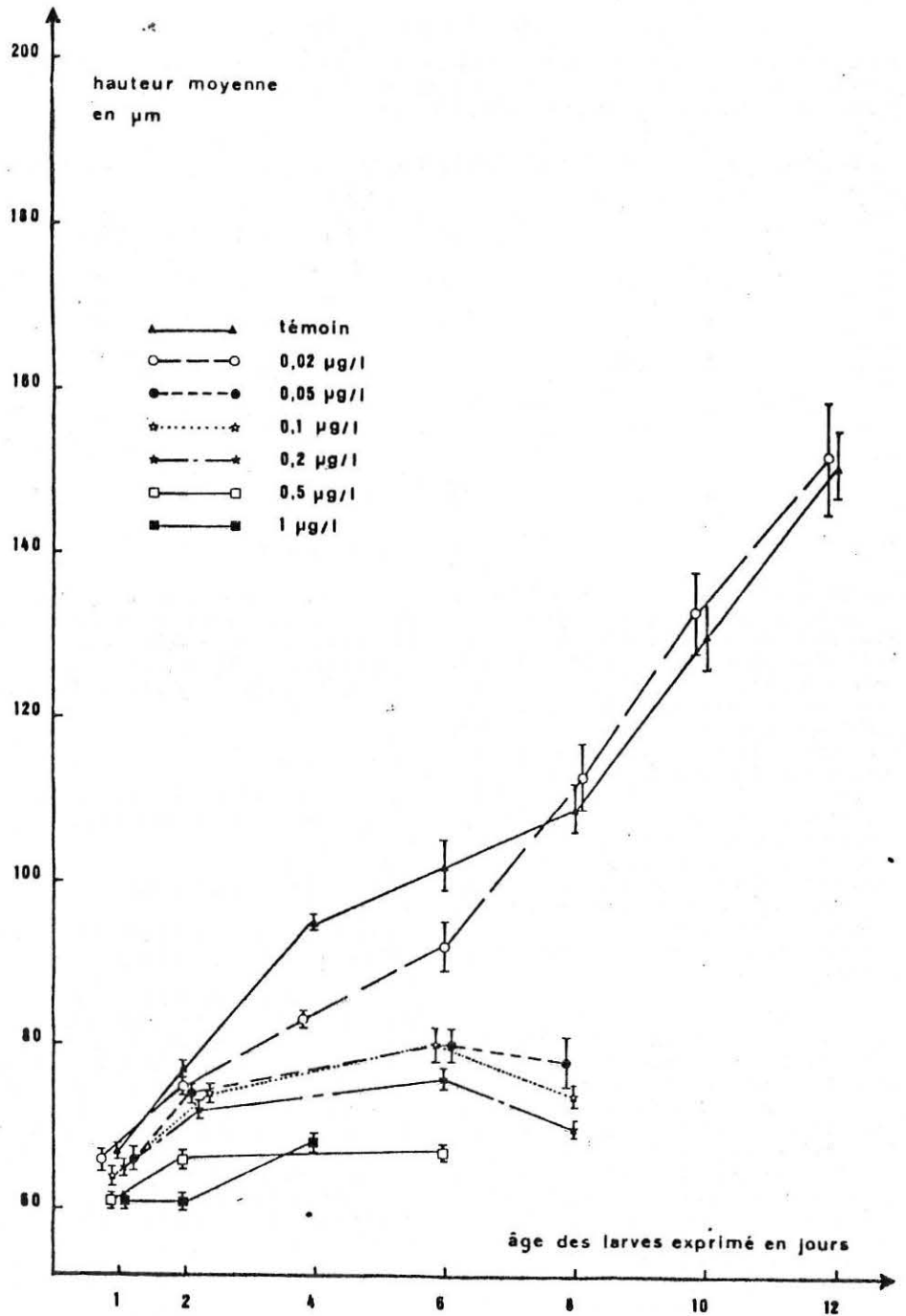


Fig. 1 — Action de l'acétate de tributyle-tain sur la croissance des larves de *Crassostrea gigas*.

Tableau 2 — Pourcentages de mortalités des véligères de *Crassostrea gigas*, élevées en eau de l'Océan, à différentes concentrations d'acétate de tributyle-étain, et en eau du bassin d'Arcachon, prélevée en juillet 1981, dans le chenal du Teychan et dans le port de Plaisance d'Arcachon (Port Arc.).

Age des larves exprimé en jours	CONCENTRATIONS EXPRIMEES EN $\mu\text{g/l}$ .							Eau du Bassin (1981)	
	0	1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	Teychan	Port Arc.
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	2	2	2	1	7	1	0	1
4	3	25	3	3	1	8	4	4	11
6	4	98	14	7	7	8	6	7	11,5
8	8	—	90	15	13	14	6	7	12
10	8	—	—	42	40	60	8	7	14
12	8	—	—	99	82	78	8	7	40

La croissance à 0,02  $\mu\text{g/l}$  est comparable à celle des témoins tableau 3 et figure 1, malgré un léger ralentissement entre les quatrième et sixième jours qui correspond vraisemblablement à la perturbation du régime trophique.

Dans tous les autres cas, nous observons un ralentissement de la croissance qui est fonction de la concentration en TBT, même avant que les mortalités n'interviennent ; il se manifeste très fortement à 1 et 0,5  $\mu\text{g/l}$ .

La faible pousse notée entre 0,2 et 0,05  $\mu\text{g/l}$  s'explique par l'existence de quelques véligères dont le régime trophique ne semble pas perturbé, et qui se développent avant d'être décimées par les mortalités ; leur nombre augmente dans les élevages quand la concentration en TBT diminue.

3.3 Les élevages en eau du port de plaisance d'Arcachon.

### 3.3.1. — Été 1981.

De l'eau du port de plaisance a été prélevée le 15 juillet 1981 en surface (ligne de flottaison des embarcations), par trois heures de descendant, ainsi que dans le chenal du Teychan (chenal principal du Bassin). Nous comparerons les résultats obtenus dans les 2 cas sur les élevages larvaires de *C. gigas* :

— des anomalies de la masse viscérale se manifestent le second jour (40%) en eau du port ;

— en 12 jours, la mortalité n'atteint que 7% en eau du bassin (tableau 2) ; elle est plus importante en eau du port où elle atteint 11% le 4ème jour et culmine à 40% en fin d'expériences ;

— malgré une hauteur moyenne légèrement supérieure au départ tableau 3 et figure 2, la croissance des larves en eau du port est ralentie ; en effet la plupart des larves se développent mais on note la persistance de larves D dont la hauteur est pratiquement stationnaire ; il s'en suit une hétérogénéité de la population quant à la distribution des tailles,

caractéristique d'un milieu perturbé : c'est une des premières manifestations de la présence d'un micropolluant (HIS et ROBERT 1982).

La reprise de croissance, observée du 10ème au 12ème jour, s'explique par la mortalité de ces véligères de petite taille.

### 3.3.2. Printemps 1982.

L'eau du port a été prélevée comme précédemment, le 15 avril 1982, après la remise en eau printanière des embarcations :

- à la pleine mer
- par trois heures de descendant
- à la basse mer.

Parallèlement, de l'eau de mer prélevée dans le chenal du Teychan par trois heures de descendant, a été utilisée.

Les pourcentages de mortalités et de larves anormales sont restés faibles dans les quatre cas (inférieurs ou égaux à 20%), malgré la présence, passagèrement, de quelques véligères présentant des protubérances de la masse viscérale le second jour, en eau du port.

L'examen des courbes de croissance des larves (figure 3 et tableau 3) montre que le développement des véligères est très semblable dans tous les élevages.

En aucun cas nous n'avons noté des perturbations chez véligères, ou des déséquilibres de populations quant à la distribution des tailles.

## 4 — DISCUSSION

Sur le plan expérimental, l'action de l'acétate de tributyle-étain, élément éminemment toxique, se manifeste de façon particulièrement marquée aux différentes concentrations testées. Son action progressive a permis d'établir une échelle qui résume

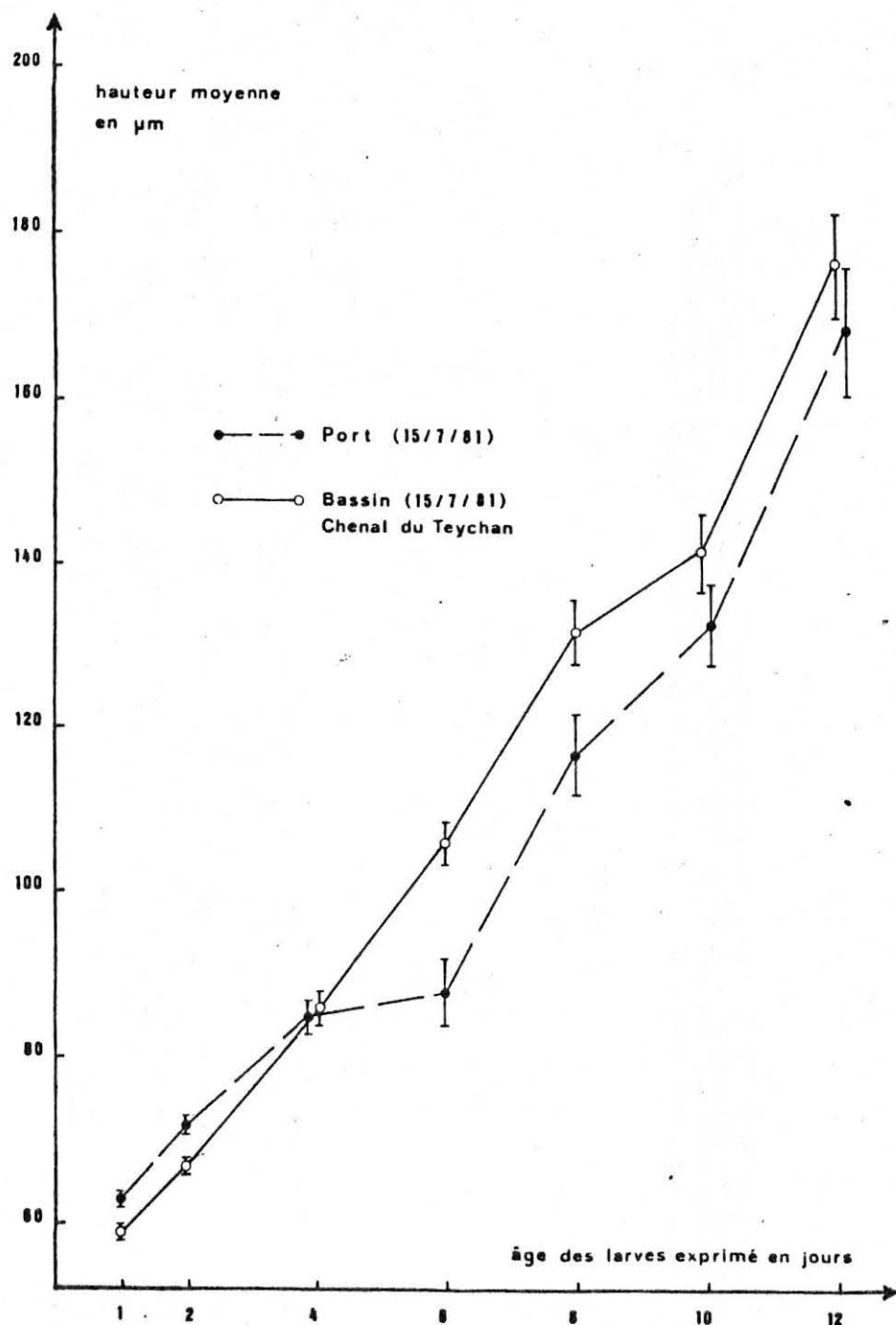


Fig. 2 — Croissance des larves de *C. gigas* élevées en eau du port de plaisance et en eau du bassin d'Arcachon (Chenal du Teychan), prélevées le 15 juillet 1981.

Tableau 3 — Hauteurs moyennes exprimées en  $\mu\text{m}$  avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95%, des larves de *Crassostrea gigas* élevées en eau de l'Océan à différentes concentrations en acétate de tributyle-étain et en eau du bassin d'Arcachon (1981) A: eau prélevée le 15/07/81 dans le chenal du Teychan; B: eau de surface du port de Plaisance à la même date. — 1982: Eaux prélevées au mois d'avril 1982 — C: dans le chenal du Teychan à marée basse. — D :E et F: dans le port de plaisance d'Arcachon respectivement à la pleine mer, par trois heures de descendant et à basse mer.

Age des larves exprimé en jours	CONCENTRATIONS en $\mu\text{g/l}$ .							1981		1982			
	0	1	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	A	B	C	D	E	F
1	66,90 $\pm 0,73$	61,19 $\pm 0,98$	60,85 $\pm 1,15$	64,04 $\pm 0,66$	64,28 $\pm 0,94$	65,62 $\pm 0,76$	66,12 $\pm 0,63$	58,70 $\pm 0,88$	62,65 $\pm 0,69$	67,46 $\pm 0,69$	67,48 $\pm 0,59$	65,89 $\pm 0,62$	67,54 $\pm 0,62$
2	77,07 $\pm 0,71$	61,08 $\pm 0,83$	66,04 $\pm 0,73$	71,65 $\pm 0,65$	73,79 $\pm 0,75$	73,97 $\pm 0,83$	74,92 $\pm 0,82$	67,39 $\pm 1,15$	71,88 $\pm 0,80$	78,35 $\pm 0,71$	78,00 $\pm 0,82$	77,07 $\pm 0,79$	77,76 $\pm 0,94$
4	94,77 $\pm 1,18$	68,43 $\pm 0,7$	—	—	—	—	83,14 $\pm 1,29$	86,45 $\pm 1,91$	85,21 $\pm 1,74$	87,67 $\pm 1,03$	88,33 $\pm 1,15$	88,70 $\pm 1,04$	85,99 $\pm 1,00$
6	102,37 $\pm 2,70$	—	67,01 $\pm 0,87$	75,79 $\pm 1,48$	79,79 $\pm 1,93$	78,82 $\pm 2,04$	91,92 $\pm 2,84$	105,79 $\pm 2,49$	88,31 $\pm 3,74$	105,31 $\pm 2,51$	108,38 $\pm 2,84$	103,84 $\pm 2,38$	100,03 $\pm 2,53$
8	109 $\pm 2,7$	—	— $\pm 0,85$	70,49 $\pm 1,46$	73,62 $\pm 2,82$	77,98 $\pm 4,31$	113,42 $\pm 3,6$	132,16 $\pm 5,16$	116,71 $\pm 3,25$	134,20 $\pm 3,31$	133,49 $\pm 4,13$	126,05 $\pm 4,32$	120,39 $\pm 4,45$
10	130,14 $\pm 4,00$	—	—	—	—	—	133,31 $\pm 4,49$	142,18 $\pm 4,14$	132,58 $\pm 4,70$	151,45 $\pm 4,25$	154,54 $\pm 4,19$	145,31 $\pm 4,67$	144,07 $\pm 4,45$
12	150,95 $\pm 4,75$	—	—	—	—	—	151,73 $\pm 7,14$	177,21 $\pm 6,21$	169,13 $\pm 2,57$	167,98 $\pm 5,48$	170,90 $\pm 4,35$	176,14 $\pm 5,23$	161,79 $\pm 5,31$

E. HIS, D. MAURER ET R. ROBERT

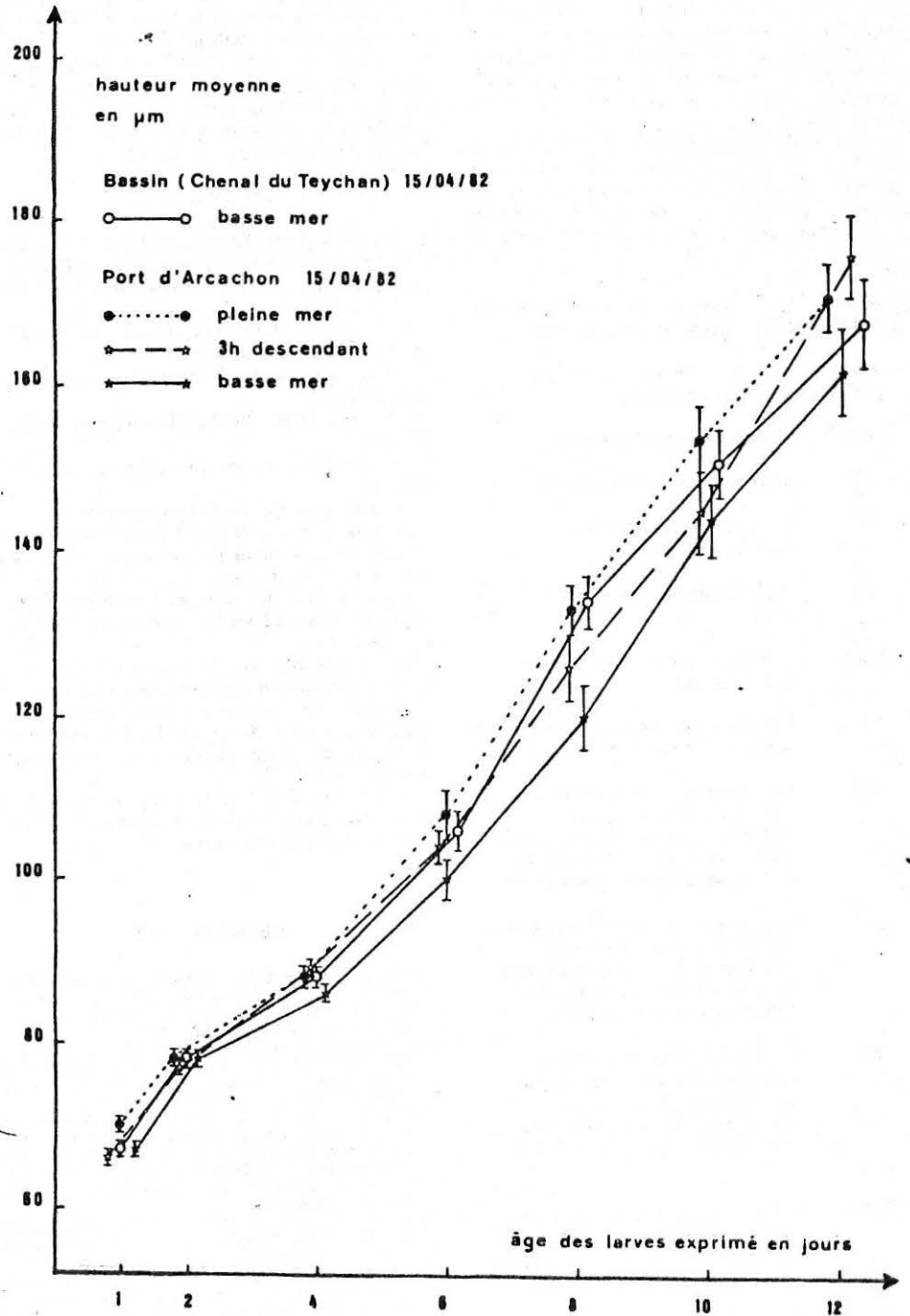


Fig. 3. — Croissance des larves de *Crassostrea gigas* élevées en eau du bassin d'Arcachon (Chenal du Teychan) et en eaux du port de plaisance prélevées le 15 avril 1982 à différentes heures de la marée.

l'essentiel de nos observations, depuis le blocage des fécondations, jusqu'à l'absence d'effet sur la reproduction de *Crassostrea gigas* (tableau 4).

La comparaison de ces résultats, avec ceux obtenus en utilisant l'eau de surface du port de plaisance d'Arcachon, permet de situer le degré de contamination de ce dernier:

— au cours du mois de juillet 1981, l'obtention de larves D normales, qui présentent pendant la durée des observations une croissance subnormale, permet de situer le seuil au-dessous de la valeur de 0,05 µg/l.; les mortalités qui apparaissent les derniers jours, et

l'hétérogénéité des populations larvaires, quant à la distribution des tailles, permettent d'affirmer que l'on se situe au-dessus de 0,02 µg/l.

— au cours du mois d'avril 1982, au contraire, les faibles taux de mortalité et la croissance observée, même à basse mer, permettent d'affirmer que l'eau du port de plaisance contenait dans la fraction dissoute, aux maximum 0,02 µg/l. de T.B.T.

#### CONCLUSIONS

En l'absence d'une méthode chimique suffisamment fine, les tests de toxicité sur les larves de *Crassostrea gigas* permettent d'évaluer le degré de contamination d'une eau de mer, en sels organostanniques.

Le temps nécessaire pour obtenir une réponse par cette méthode biologique est de:

— 24 heures, pour les concentrations supérieures ou égales à 1 µg/l.

— 24 heures, entre 1 et 0,5 µg/l., avec confirmation en six jours.

— 8 jours pour les valeurs comprises entre 0,5 et 0,05 µg/l.

— 10 à 12 jours, pour les valeurs inférieures.

En ce qui concerne le port d'Arcachon, nous avons constaté une diminution de la teneur en T.B.T. de son eau de surface, de l'été 1981 au printemps 1982, pouvant résulter des mesures restrictives prises en début d'année, vis à vis des peintures antisalissures à base de T.B.T.

En ce qui concerne le bassin d'Arcachon, les données obtenues en 1981, avec différentes eaux, sur les larves D nées en éclosion ou prélevées in situ et mises en élevage (HIS et ROBERT 1981), permettent d'affirmer qu'on se trouvait à un taux égal ou inférieur à 0,02 µg/l.

Ceci permet d'exclure la présence de substances susceptibles d'agir sur les larves par toxicité aigue dans les eaux du bassin d'Arcachon.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ALZIEU, C., THIBAUD, Y., HERAL, M. et BOUTIER, B. 1980. Evaluation des risques dus à l'emploi des peintures anti-salissures dans les zones conchylicoles. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.* 44 (4), 305-348.
- CALABRESES, A. McINNES, J. R., NELSON, D. A. et MILLER, J. E. 1977. Survival and growth of bivalve larvae under heavy metals stress. — *Bull. Environn. Contam. Toxicol.* 11 (1), 92-97.
- FERAL, C. 1982. Etude expérimentale des mécanismes assurant l'apparition, le maintien et le cycle d'un tractus génital mâle externe chez les femelles de *Nucella lapillus* (L), *Nassarius reticulatus* (L), *Ocenebra erinacea* (L) Mollusques néogastéropodes gonochoriques. Thèse de *Sci. Nat.*, Caen, 183 p.
- HELM, M. M. et MILLICAN, P. F. 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 11, 1-12.
- HIS, E. et ROBERT R. 1980. Action d'un sel organo-métallique, l'acétate de tributyl-étain sur les oeufs et les larves D de *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Cons. inter. Explor. Mer, Comité de la Mariculture*, C. M. 1980/F, 27, 10p.
- HIS, E. et ROBERT, R. 1981. Les causes de mortalités larvaires de *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon. *Rapport I.S.T.P.M.*, 7 Septembre 1981, 31p. + annexes.

Tableau 4 — Echelle d'action de l'acétate de tributyl-étain sur la reproduction de *Crassostrea gigas*.

Concentrations (µg/l.)	Action sur la reproduction de <i>Crassostrea gigas</i>
100	Inhibition de la fécondation
50	Inhibition de la segmentation
25	Inhibition partielle de la segmentation (40%)
10	Absence de formation des trochophores
3 et 5	Pas de véligères — Trochophores monstrueuses
1	Véligères anormales — Mortalité totale en 6 jours
0,5	Nombreuses larves anormales — Mortalité totale en 8 jours. Perturbation du régime trophique, s'accroissant du 4ème au 8ème jour. Croissance très réduite.
0,2	Pourcentage de larves D anormales moins élevé. Perturbation du régime trophique dès le 4ème jour. Mortalités progressives; totales le 12ème jour. Croissance faible.
0,1	Larves D en majorité normales. Perturbation marquée du régime trophique dès le 6ème jour. Croissance faible jusqu'au 6ème jour. Mortalité subtotale le 12ème jour.
0,05	Larves D normales. Perturbation du régime trophique marquée le 8ème jour. Mortalités importantes à partir du 10ème jour. Croissance réduite.
0,02	Larves D normales. Mortalités réduites. Bonne croissance. Pas d'action du produit.



- HIS, E. et ROBERT, R. 1982. — Le danger de traitement par le sulfate de cuivre en zone conchylicole: toxicité vis-à-vis des oeufs et des jeunes larves de *Crassostrea gigas*, *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 45 (2), 117-125.
- LUCAS, A., LE PENNEC, M., PRIEUR, D. et LEROUX, S. 1976. Elevages expérimentaux de larves de mollusques marins. *Laboratoire de Zoologie, Aquaculture et Pollutions Marines*, Brest., 12 p.
- LE PENNEC, M. et LE ROUX, S. 1979. Effets d'un pétrole brut sur la formation de la coquille de *Mytilus edulis* (L.) (Mytilidae, Bivalvia). *Rev. Inst. Océanogr. Med.*, 55, 49-55.
- ROBERT, R. et HIS, E. 1981. Action de l'acétate de tributyle étain sur les oeufs et les larves D de deux mollusques d'intérêt commercial: *Crassostrea gigas* (Thunberg) et *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) *Cons. intern. Explor. mer. Comité de la Mariculture*, C. M. 1981/F: 42, 15 p.
- ROBERT, R., HIS, E. et MAURER, D. 1982. L'unité d'écophysiologie et de Molysmologie larvaire des bivalves d'intérêt commercial du laboratoire d'Arcachon., *Science et Pêche*, sous presse.
- SMITH, B. S. 1981. Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus*; *Ilyanassa obsoleta*. — *J. Appl. Toxicol.* 1 (3), 141-144