

INFLUENCE DE CHOCS THERMIQUES ET D'UN TRAITEMENT AU CHLORE SUR LA CROISSANCE D'ORGANISMES PHYTOPLANCTONIQUES MARINS

1. La diatomée *Gyrosigma spencerii* (Cleve)⁽¹⁾

par Pierre MAGGI, Patrick LASSUS et Alain ABARNOU

Introduction.

— Les travaux présentés font partie d'une étude générale sur les effets probables de l'implantation des centrales nucléaires sur les organismes phytoplanctoniques marins.

De grandes quantités d'eau de mer transitent par les condenseurs de ces centrales où elles s'échauffent brutalement ; elles sont ensuite rejetées dans le milieu marin et y dissipent leurs calories. Afin de limiter la fixation des salissures biologiques, une injection de chlore est effectuée à l'entrée des condenseurs ; cette pollution chimique vient alors s'ajouter à la pollution thermique.

Nous avons recherché, sur le développement de *Gyrosigma spencerii*, les effets : de chocs thermiques, d'injections de chlore, de l'association de ces deux traitements. —

I. Méthodologie.

Les cultures de *Gyrosigma spencerii* sont soumises à divers traitements à l'aide du dispositif schématisé sur la figure 1 qui comprend : une pompe péristaltique, un échangeur thermique, un module de maintien en température et de retour à la température initiale, un système de régulation thermique du module précédent.

Les cultures de *G. spencerii* utilisées contiennent environ 15 000 cellules par millilitre, en eau de mer préalablement filtrée sur membrane 0,22 μ . L'inoculum de *G. spencerii* provient d'un culot de centrifugation d'une culture à forte densité cellulaire ; ainsi, nous ramenons à des valeurs insignifiantes les concentrations des constituants du milieu de culture originel. Après expérimentation, les cultures sont enrichies avec du milieu E.S. de Provasoli.

La culture de *G. spencerii*, maintenue à l'une des quatre températures initiales (12, 16, 20 et 24°), est envoyée par un système de pompage à débit constant (31,4 ml/s), dans un échangeur thermique constitué

(1) Travail effectué sous contrat E.D.F. (Direction de l'Équipement de Paris).

d'un serpentín en acier inoxydable (diamètre interne : 10 mm, longueur immergée : 2 800 mm). Elle y subit, en 7 secondes, une élévation brutale de température ou ΔT de 10, 12, 15 ou 17° C. Après échauffement, la

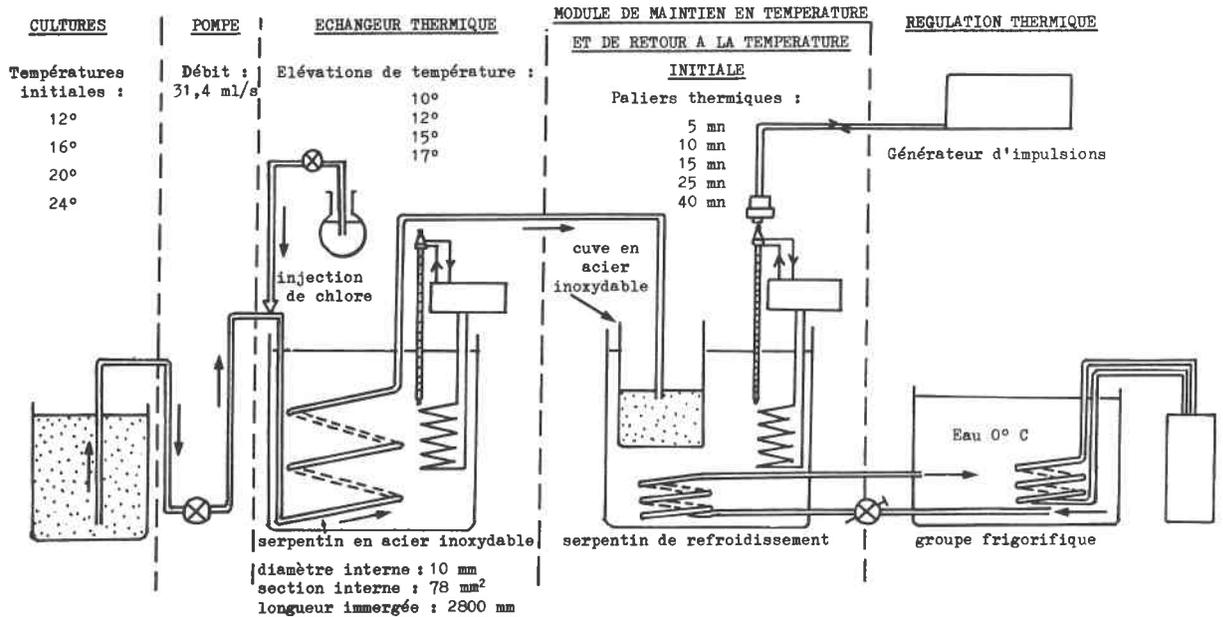


Fig. 1. — Schéma du dispositif expérimental.

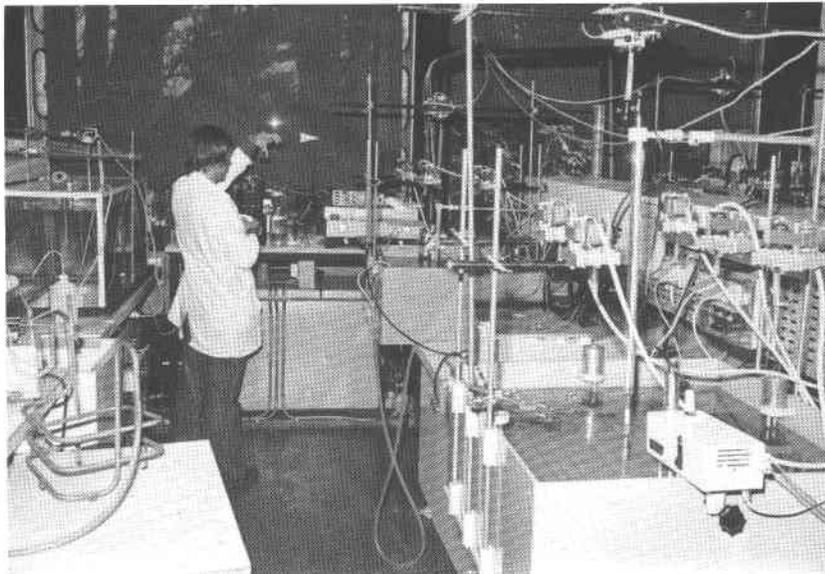


Fig. 2. — Vue générale des appareillages reproduisant les élévations thermiques auxqueltes est soumis le plancton transitant dans les condenseurs des centrales thermiques nucléaires.

culture est récupérée dans une cuve en acier inoxydable, placée elle-même dans un module à la température finale atteinte $T_i + \Delta T$, pendant les 5, 10, 15, 25 ou 40 mn constituant les différentes durées de palier thermique.

Le palier thermique achevé, le retour à la température initiale est obtenu en 12 h par régulation thermique du module. Un programmeur contrôle la thermorégulation de façon à obtenir les décroissances thermiques recherchées (fig. 3).

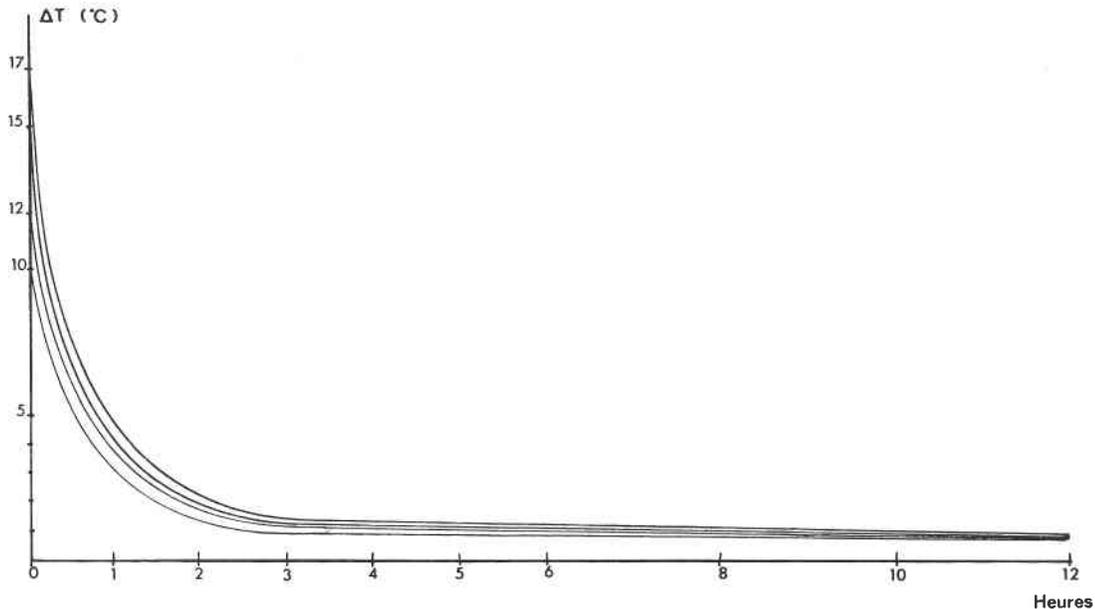


Fig. 3. — Cinétique de retour à la température initiale pour les 4 élévations thermiques testées.

Les programmes ont pour support des films cinématographiques 16 mm ajourés se déroulant devant une cellule photoélectrique qui commande la rotation d'un micromoteur associé à un thermomètre à contact de mercure ; chaque impulsion transmise au thermomètre induit une variation moyenne de $0,083^\circ$ dans le module.

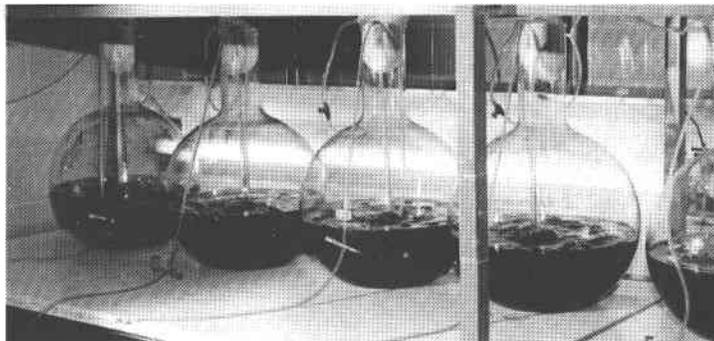


Fig. 4. — Cultures phytoplanctoniques en ballons de 10 l en salle à température régulée.

La régulation thermique est obtenue par l'utilisation de deux sources complémentaires : eau glacée et résistances chauffantes. Pendant la phase de retour à la température de départ, les cultures sont constamment agitées dans les cuves, afin de favoriser les échanges thermiques avec le liquide du module soumis à la régulation thermique. Ce temps écoulé, les cultures sont transvasées dans des ballons pyrex de 10 l puis soumises à 12 h d'éclairement par jour, dans des salles à température régulée à 12, 16, 20 et 24° C (fig. 4).

Dans le cas d'expériences avec chloration, deux solutions d'hypochlorite de sodium, préparées extemporanément, sont injectées en début d'expérience, à l'entrée de l'échangeur thermique, de façon à obtenir 0,5 ou 1 mg/l de chlore libre au point d'injection.

Les concentrations en chlore résiduel sont mesurées, pour chaque essai, par la méthode à la diéthylpara-phénylène diamine (D.P.D.) appliquée à l'eau de mer (Fiquet, 1978). Cette méthode permet de doser l'ensemble des oxydants présents dans le milieu.

La durée d'action de l'hypochlorite de sodium injecté se superpose à celle du choc et du palier thermique, soit 5, 10, 15, 25 ou 40 mn. Ce temps écoulé, les oxydants libres sont neutralisés par addition d'une solution de thiosulfate 0,1 N. L'évolution des cultures de *G. spencerii* est suivie journalièrement par :

des mesures de concentrations en chlorophylle par la méthode SCOR-UNESCO (1966),

des numérations des cellules et l'étude des répartitions de leurs tailles à l'aide d'un compteur de particules ZB couplé avec analyseur C 1 000 fabriqués par Coultronics S.A. (fig. 5).



Fig. 5. — Compteur-analyseur de particules Coultronics.

II. Résultats.

1° Les effets de chocs thermiques.

Si la température initiale est de 12°, les quatre élévations thermiques appliquées (10, 12, 15 et 17°) demeurent sans effet sur la multiplication de *Gyrosigma spencerii*, quelle que soit la durée de palier thermique.

Il en est de même pour :

ΔT 10, 12 et 15° à partir de $T_i = 16^\circ$,

ΔT 10 et 12° à partir de $T_i = 20^\circ$.

Les courbes de croissance de ces différentes cultures sont semblables à celles de ΔT 10° à partir de $T_i = 12^\circ$ qui sont données dans la figure 6.

Pour les autres cultures, la durée du palier thermique modifie légèrement la croissance : exemple ΔT 17° pour $T_i = 16^\circ$ et ΔT 10° pour $T_i = 24^\circ$.

L'effet est plus marqué pour les paliers 25 et surtout 40 mn avec ΔT 15° pour $T_i = 20^\circ$; le retard de développement est de 1 à 2 jours par rapport au témoin.

Le retard s'accroît, en rapport avec la durée du palier thermique quand la somme $T_i + \Delta T$ dépasse 36° par exemple $\Delta T 17^\circ$ à $T_i = 20^\circ$ et $\Delta T 12^\circ$ à $T_i = 24^\circ$, les retards de développement vont de 1 à 6 jours suivant la durée d'exposition.

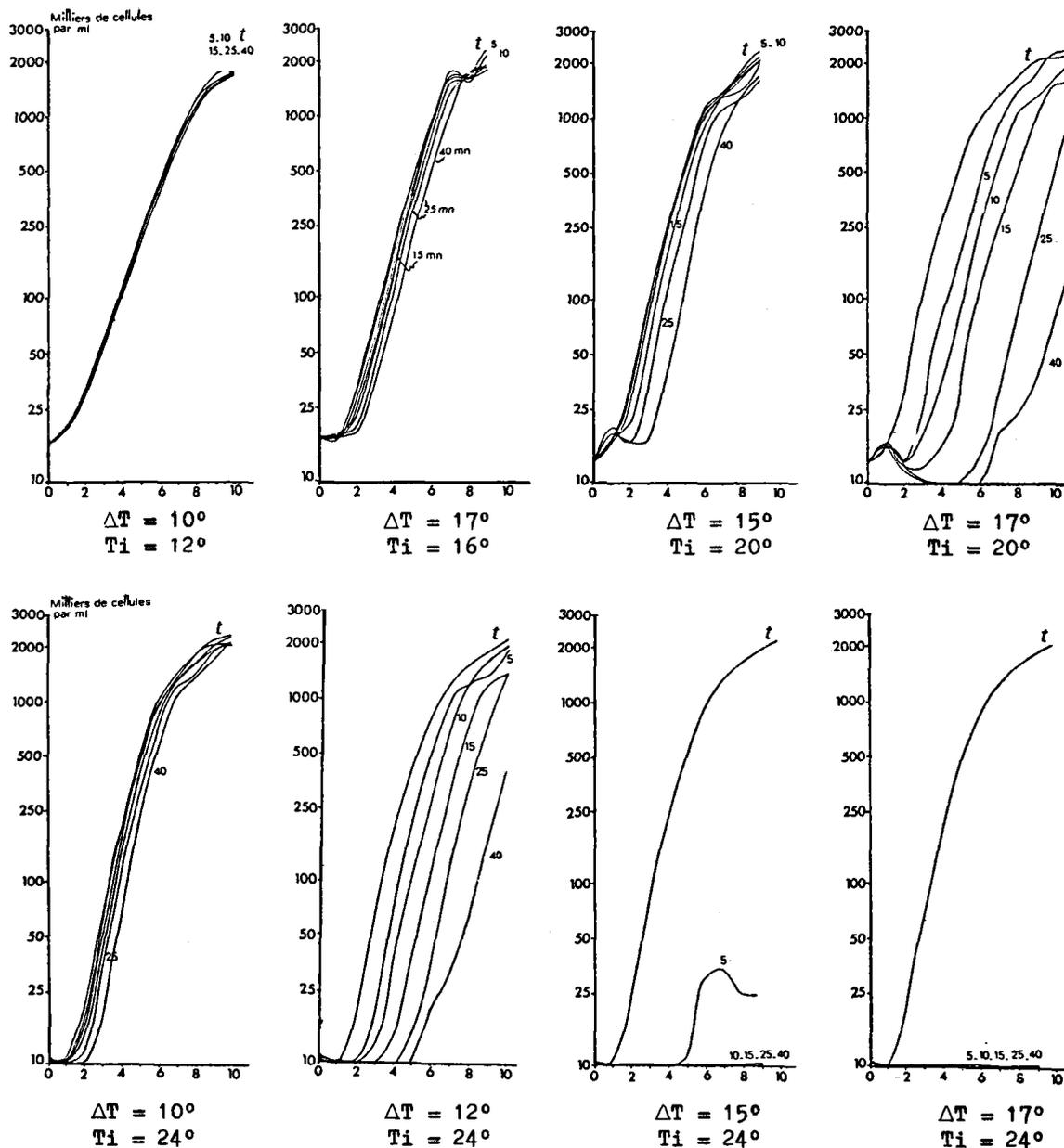


Fig. 6. — Influence d'élévations thermiques (ΔT), à partir des températures initiales (T_i) 12, 16, 20 et 24° , sur la multiplication de *Gyrosigma spencerii*.

Le développement des cultures est quasi nul si $T_i = 24^\circ$ et $\Delta T = 15$ et 17° .

On remarquera qu'une élévation supplémentaire de 2° dans la somme $T_i + \Delta T$ a un effet très marqué lorsque cette somme avoisine 36° .

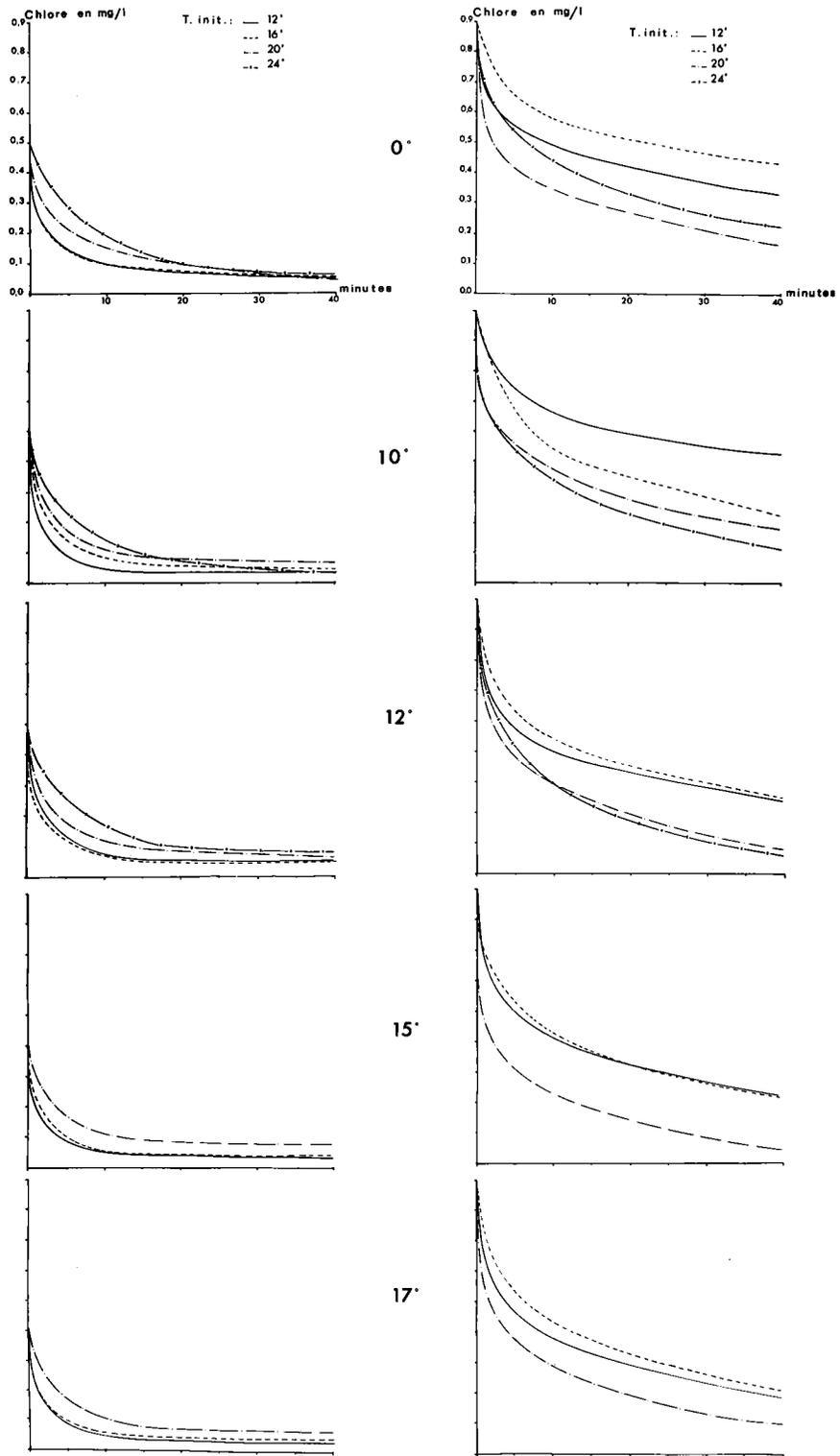


Fig. 7. — Évolution au cours du temps des teneurs en chlore libre pour chaque élévation thermique étudiée (0, 10, 12, 15 et 17°C) ; à gauche, chlore injecté : 0,5 mg/l ; à droite, chlore injecté : 1 mg/l.

2° Les effets du chlore.

Les cinétiques de disparition du chlore injecté sont représentées dans la figure 7. Les taux moyens de chlore résiduel ont été de l'ordre de 0,3 mg/l pour 1 mg/l injecté et de 0,1 mg/l pour 0,5 mg/l. Rappelons que la chloration est effectuée sur de l'eau de mer filtrée contenant les cellules phytoplanctoniques.

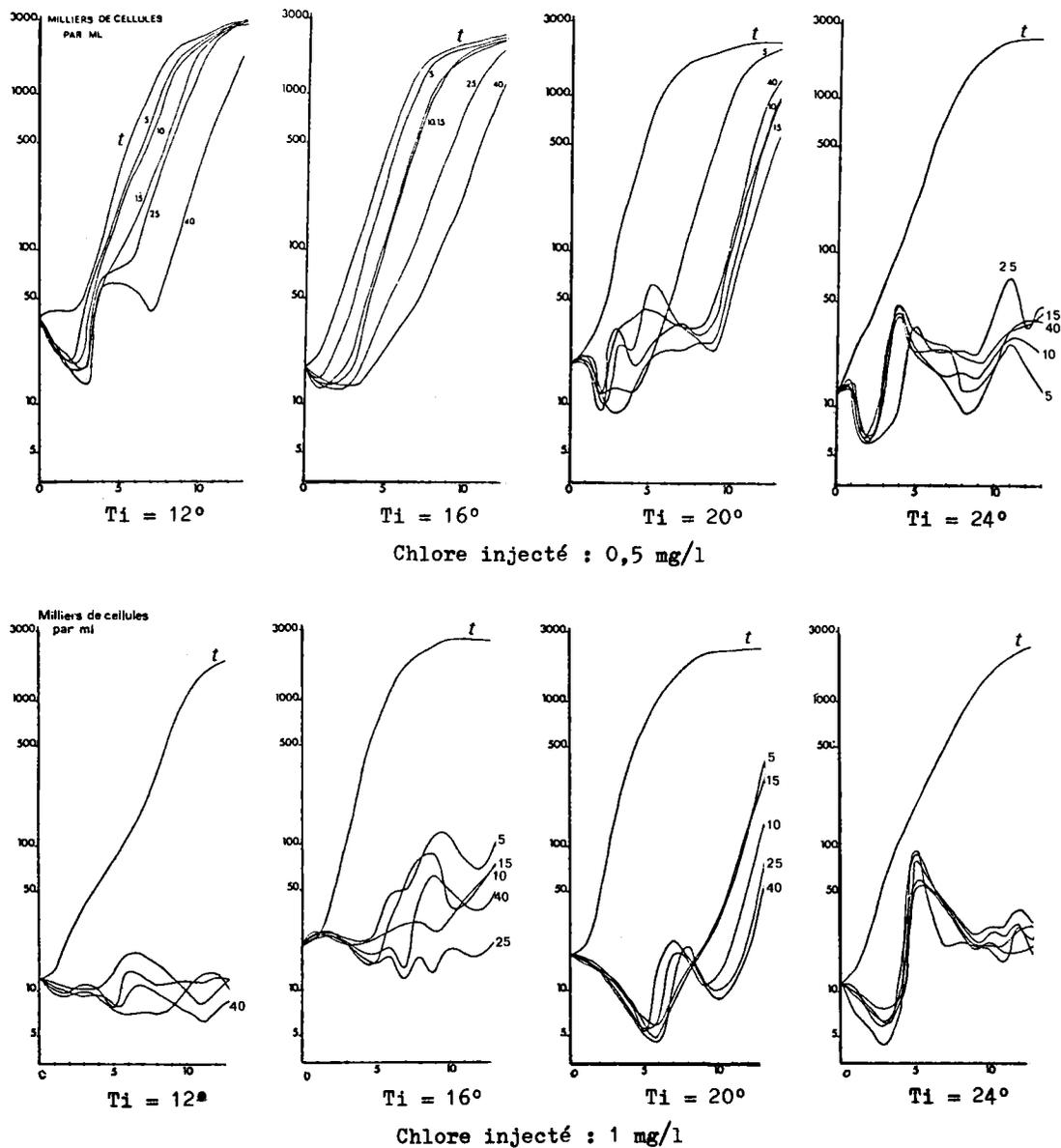


Fig. 8. — Influence d'un traitement au chlore (0,5 et 1 mg/l), sans élévation thermique, aux températures initiales (T_i) 12, 16, 20 et 24° , sur la multiplication de *Gyrodinium aureolum*.

En l'absence de toute élévation thermique, l'introduction de chlore à 0,5 mg/l dans les cultures à 12, 16 et 20° retarde le développement de 1 à 8 jours selon la température initiale et la durée d'exposition (fig. 8) ; à 24° les retards dépassent 8 jours quelles que soient les durées d'exposition.

Lorsque la concentration est de 1 mg/l, les retards de développement sont très accusés à toutes les températures et sans relation avec la durée de chloration ; la reprise du développement ne peut être due qu'à la multiplication d'un nombre variable, mais très faible, de cellules qui ont survécu à la phase toxique.

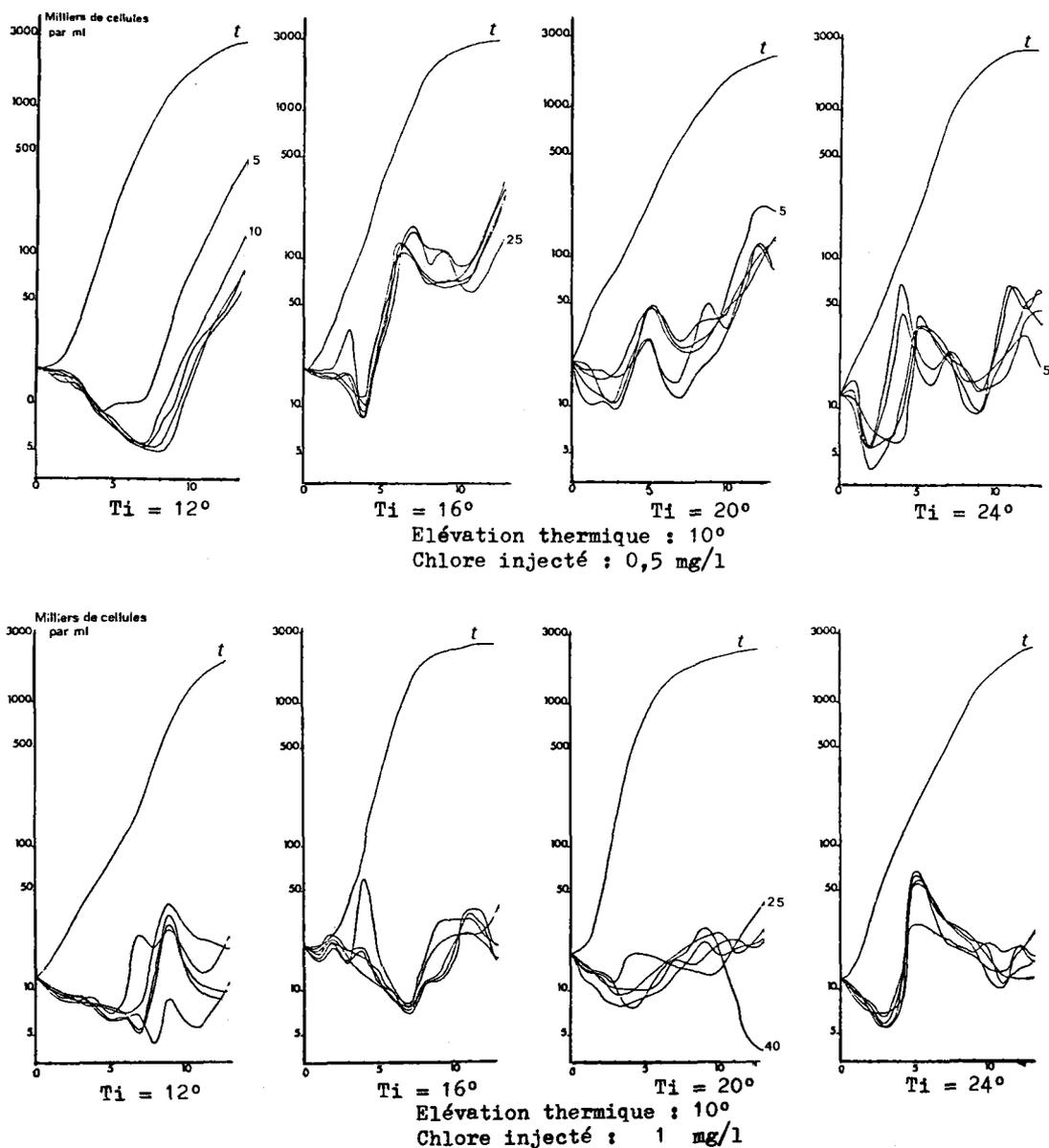


Fig. 9. — Influence d'un traitement au chlore (0,5 et 1 mg/l), et d'une élévation thermique de 10° , à partir des températures initiales (T_i) 12, 16, 20 et 24° , sur la multiplication cellulaire de *Gyrosigma spencerii*.

3° Les effets combinés des chocs thermiques et de la chloration.

La figure 9 donne la représentation de l'élévation thermique la plus faible (10°) aux deux concentrations en chlore (0,5 et 1 mg/l) pour les quatre températures initiales. Lorsque l'effet du chlore s'ajoute à celui d'un choc thermique, les cultures sont d'autant plus inhibées que la durée d'exposition au chlore est plus longue.

Pour 0,5 mg/l de chlore injecté, les retards de multiplication vont de 4 à 8 jours, selon le ΔT et la durée d'exposition. Dans toutes les conditions expérimentales, l'injection de 1 mg/l de chlore provoque des retards supérieurs à 12 jours. En causant de sérieux dommages aux cellules, le chlore vient donc accentuer l'effet du choc thermique.

Aucun des paramètres étudiés n'a eu d'effet décelable sur la taille des diatomées, quant aux mesures des teneurs en chlorophylle a, elles nous ont permis de confirmer l'absence d'anomalies, pour ce pigment, dans les cellules.

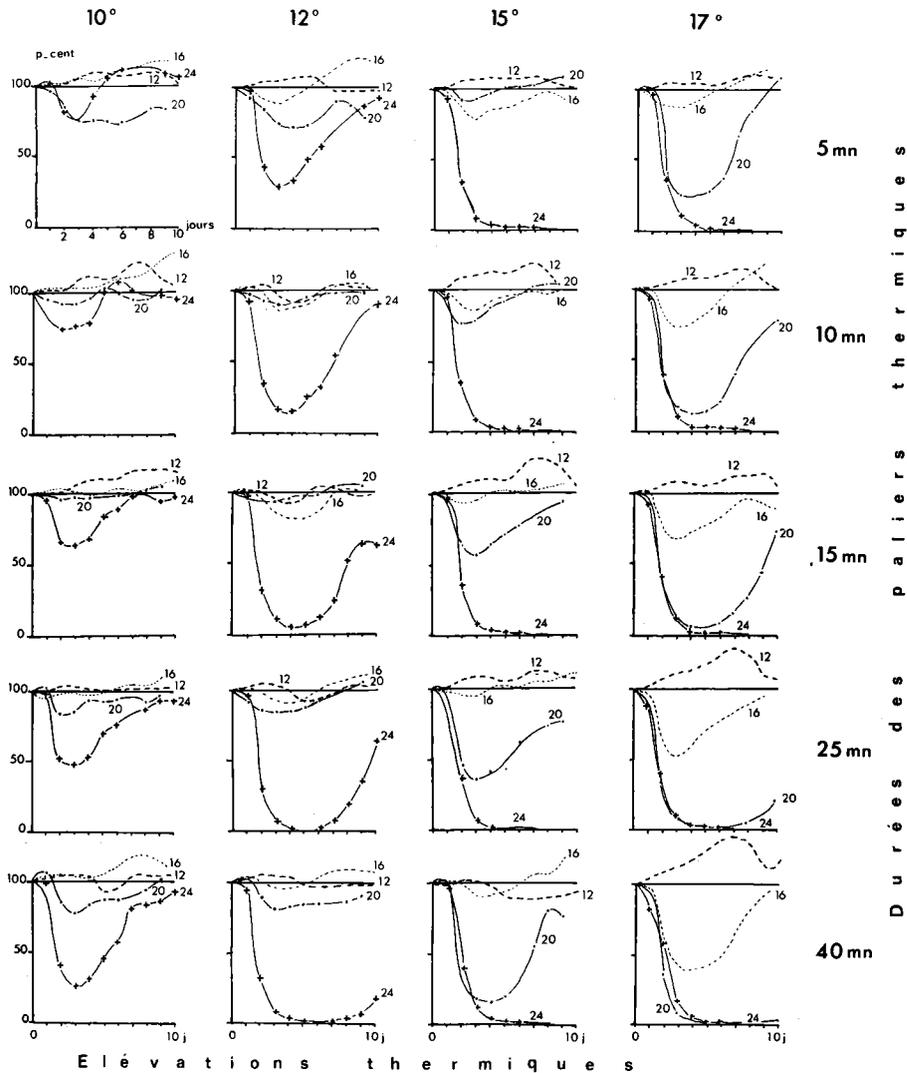


Fig. 10. — Pourcentages de développement, par rapport au témoin, de cultures de *Gyrodinium aureolum* subissant un échauffement brutal, à partir des températures initiales 12, 16, 20 et 24°.

III. Discussion.

Afin de quantifier les variations observées, le développement des cultures a été représenté par la multiplication cellulaire quotidienne rapportée à celle de la culture témoin. Il apparaît que les élévations thermiques n'ont pas d'effets notables si elles s'appliquent à des cultures acclimatées à des températures initiales faibles : 12 et 16° ; dans certains cas, la multiplication cellulaire est même améliorée (fig. 10).

D'autre part on constate que les réductions de croissance observées augmentent avec la durée du palier thermique. Ces effets s'accroissent lorsque les chocs thermiques sont importants et ceci d'autant plus que la température initiale est élevée, ce qui tend à montrer le rôle de la température finale atteinte ($T_i + \Delta T$).

Le chlore injecté à 0,5 mg/l en l'absence de choc thermique, cause une mortalité dont le taux augmente, avec la durée d'exposition au biocide (fig. 11). L'association du choc thermique à l'injection de 0,5 mg/l

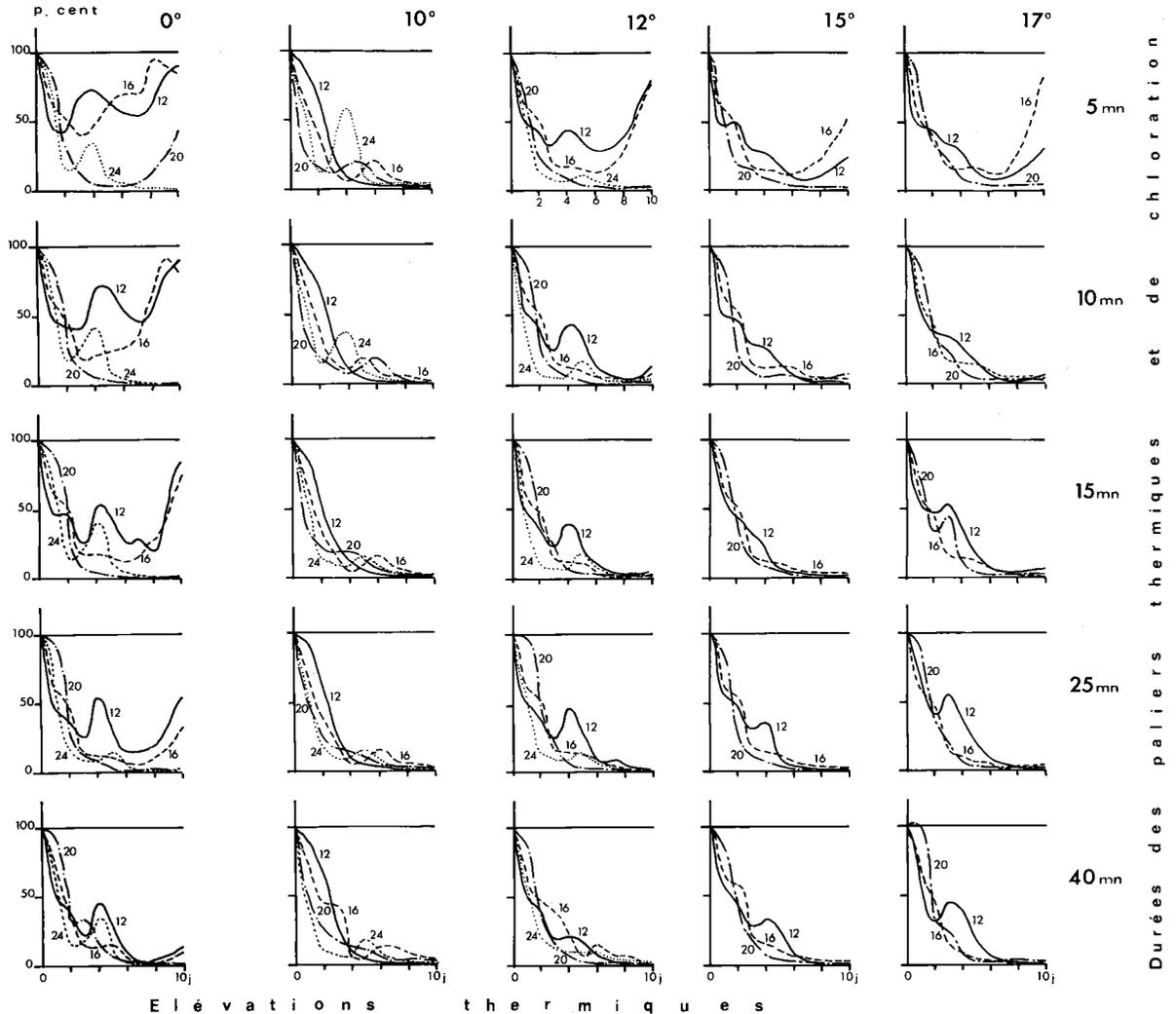


Fig. 11. — Pourcentages de développement, par rapport au témoin, de cultures de *Gyosigma spencerii* subissant un échauffement brutal et une injection de 0,5 mg/l de chlore, à partir des températures initiales 12, 16, 20 et 24°.

provoque une destruction quasi totale des cultures à l'exception de celles exposées seulement 5 mn à partir de 12 et 16° de températures initiales.

Le chlore injecté à 1 mg/l (fig. 12) détruit presque totalement les cultures en moins de 10 jours, avec ou sans variations thermiques.

L'ensemble de ces résultats est présenté sous forme de diagrammes à trois dimensions : pourcentages de développement d'une culture adaptée à une température initiale et soumise à 4 élévations thermiques pendant des durées variables. Nous avons retenu le 7^e jour de culture qui se situe à la fin de la phase exponentielle du développement des témoins (fig. 13.).

L'intensité de l'élévation thermique agit davantage quand la température initiale de culture s'élève et c'est la température finale atteinte qui semble déterminante (tabl. 1). On constate, en effet, que les déficiences dans le développement apparaissent dès la température finale de 33° pour les durées de transit les plus longues ; elles s'amplifient jusqu'à la température létale de 39°, avec des retards de croissance qui augmentent graduellement, en fonction de la durée du palier, à partir de 36° : le développement est pratique-

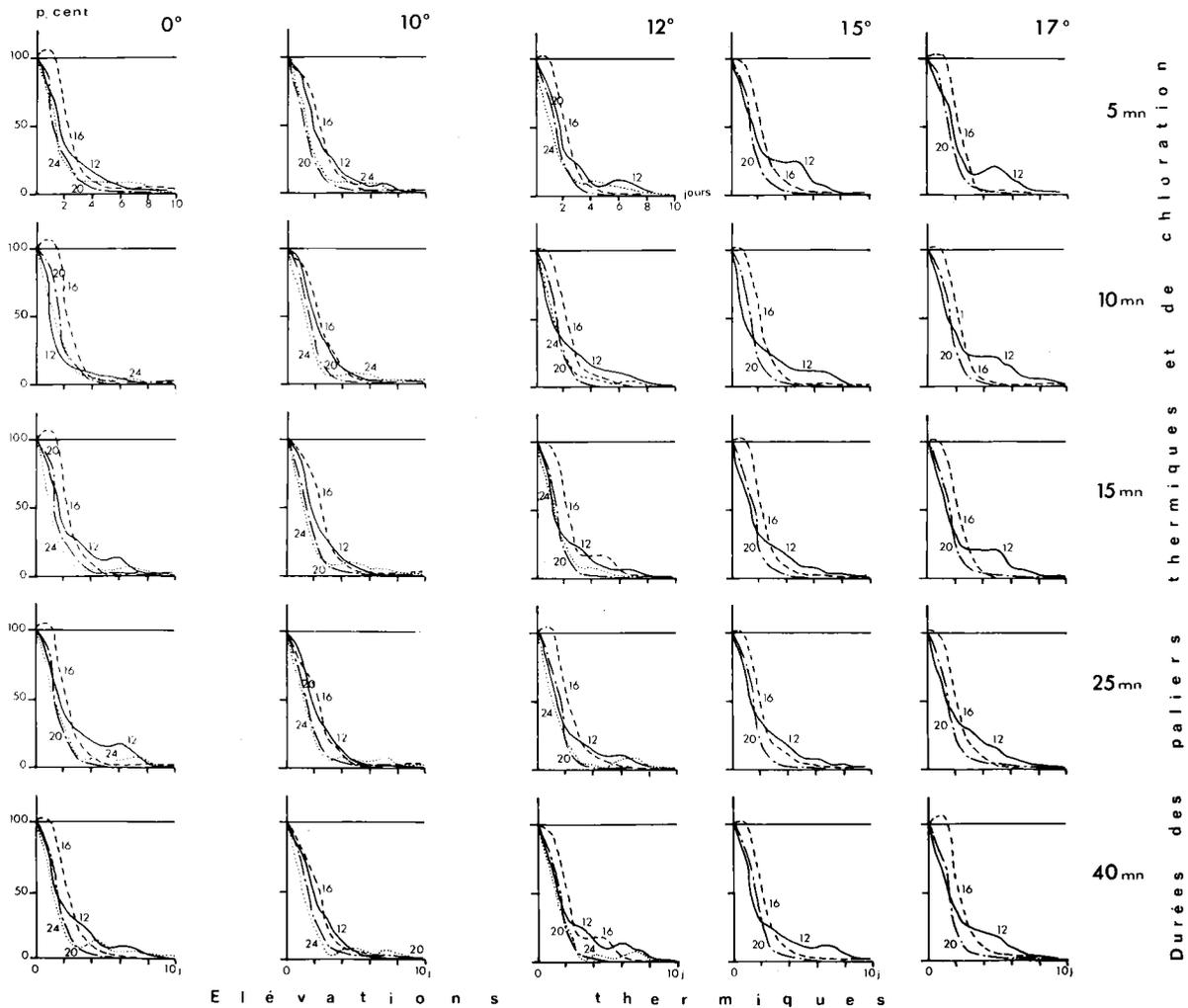


Fig. 12. — Pourcentages de développement, par rapport au témoin, de cultures de *Gyrodinium aureolum* subissant un échauffement brutal et une injection de 1 mg/l de chlore, à partir des températures initiales 12, 16, 20 et 24°.

ment nul lorsque les paliers thermiques atteignent 25 et 40 mn. Inversement la croissance est augmentée de 10 à 30 % lorsque les chocs thermiques s'appliquent aux températures initiales 12 et 16°.

Dans un travail antérieur consacré à *Phaeodactylum tricornutum*, nous avons trouvé des résultats très comparables (Maggi, Lassus et Abarnou, 1977). Hirayama et Hirano (1970) aboutissent à des conclusions semblables pour la diatomée *Skeletonema costatum* qui voit son développement affecté à partir de 35°. Par ailleurs, Daste, Khalanski et Neuville (1978) observent pour la diatomée *Navicula ostrearia* un seuil létal assez proche de 34°.

Nos expériences mettent en évidence la toxicité d'une injection de chlore même à la concentration la plus faible (0,5 mg/l) ; cette toxicité est accrue par l'addition de chocs thermiques.

Ces résultats sont à rapprocher de ceux de Carpenter, Peck et Anderson (1972) qui, étudiant la production primaire à l'entrée et à la sortie du circuit de refroidissement de la centrale de Long Island, trouvent qu'une chloration moyenne de 1 ppm à la prise (0,4 ppm au rejet) entraîne une diminution de 83 % de la production primaire, pour une élévation thermique moyenne de l'ordre de 12° C.

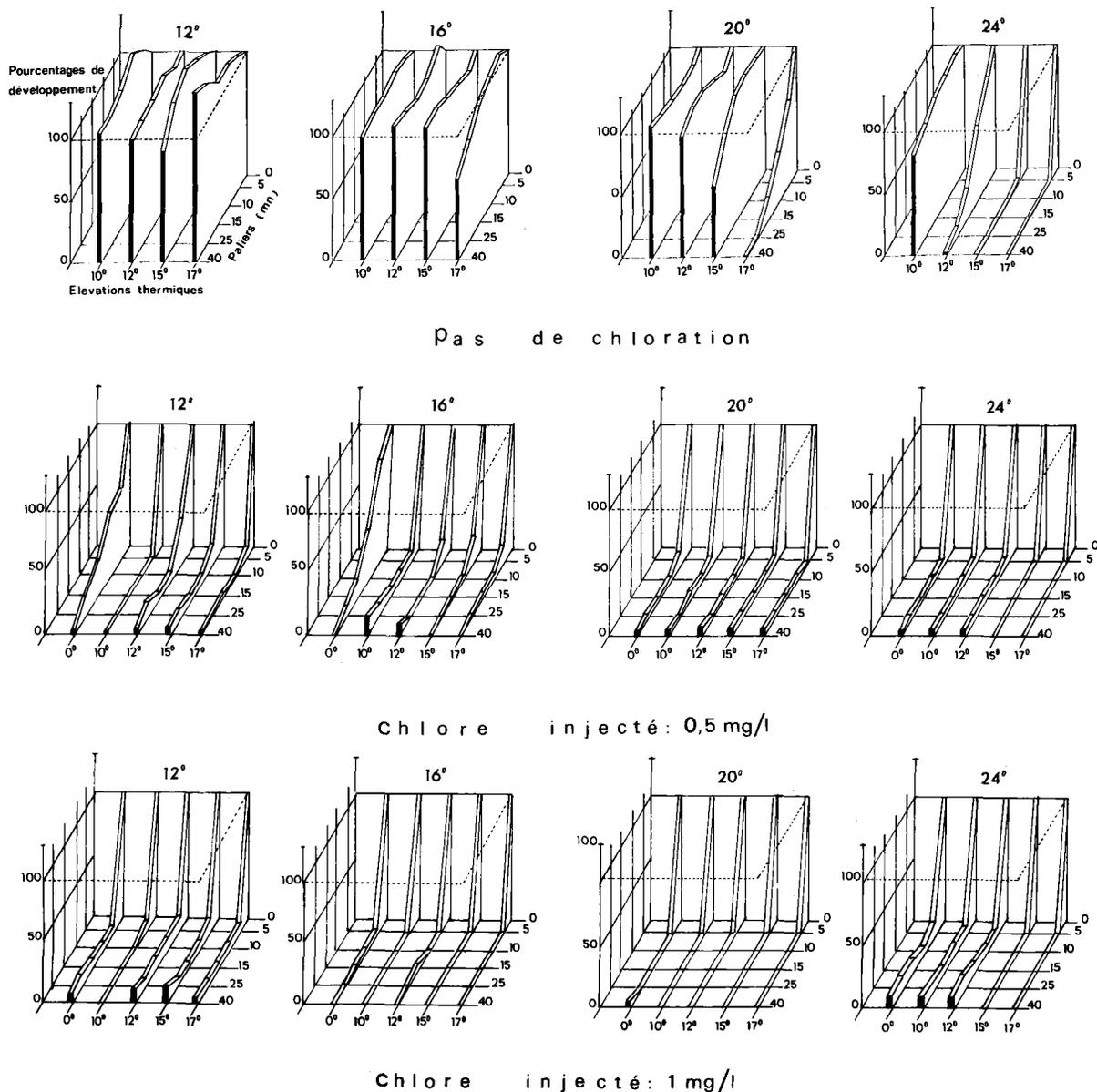


Fig. 13. — Diagrammes des pourcentages de développement, calculés par rapport au témoin, de *Gyrosigma spencerii*, en fonction des paliers et élévations thermiques, avec ou sans injection de chlore, à partir des 4 températures initiales 12, 16, 20 et 24° (7^e jour de culture).

Toujours à partir de populations phytoplanctoniques prélevées *in situ*, Eppley, Renger et Williams (1976) ont observé, en laboratoire, des réductions de photosynthèse de l'ordre de 92 %, pour une teneur en chlore de 0,5 ppm. Ces mêmes auteurs analysant les travaux de Hirayama et Hirano (1970), font apparaître que les inhibitions de croissance de la diatomée *Skeletonema costatum* touchent la phase de latence et non le

rythme des multiplications. Nous avons pu, pour notre part, vérifier ces résultats sur *G. spencerii*.

Ainsi, les effets du chlore sur le développement des diatomées, peuvent être considérés comme très importants pour l'ensemble des travaux examinés. Cependant Daste et Coll. (1978) ont trouvé des résultats nettement différents à propos de la sensibilité au chlore de trois diatomées : *Navicula ostrearia*, *Amphora perpusilla* et *Stauroneis coustaudi*, à la température de 12°. Ils ne trouvent pas d'effet pour des concentrations en chlore inférieures à 1 mg/l et n'observent pas de réductions importantes de la croissance jusqu'à 4mg/l; *N. ostrearia* se révèle même particulièrement résistante puisqu'à 20 mg/l de chlore la réduction de

Ti + Δ T (°C)	Ti (°C)	T (°C)	Paliers en minutes				
			5	10	15	25	40
22	12	10	111	124	119	103	105
24	12	12	97	106	101	100	99
26	16	10	104	108	103	105	100
27	12	15	109	119	126	114	90
28	16	12	114	102	100	106	109
29	12	17	107	115	114	129	137
30	20	10	96	95	98	101	106
31	16	15	93	99	101	108	107
32	20	12	90	99	105	107	97
33	16	17	107	103	95	82	65
34	24	10	103	101	98	92	81
35	20	15	101	103	101	85	57
36	24	12	85	55	24	8	2
37	20	17	67	40	18	2	0
39	24	15	2	0	0	0	0
41	24	17	0	0	0	0	0

Tabl. 1. — Pourcentages de développement au 7^e jour par rapport aux témoins, pour les 5 paliers expérimentés, en fonction des températures supérieures limites atteintes au cours du choc thermique.

croissance n'est que de 50 %. Il faut cependant souligner, comme le font remarquer leurs auteurs, que ces travaux concernent des chlorations effectuées en eau de mer enrichie présentant donc une demande en chlore plus élevée que l'eau de mer.

Outre ces résultats concernant plus particulièrement les diatomées, plusieurs auteurs ont étudié des effets similaires sur les flagellés marins dont certains se révèlent plus résistants (Hirayama et Hirano, 1970). De même Briand (1975) note la disparité spécifique des réductions numériques enregistrées sur le phyto-plancton transitant dans les circuits de refroidissement de deux centrales californiennes. Selon lui, les diatomées seraient les plus touchées (45 % de mortalité) alors que les dinoflagellés le seraient moins (32 %). Il signale aussi des fluctuations saisonnières de ces valeurs qui seraient dues aux variations de l'élévation thermique puisque la chloration et les effets de turbulence demeurent constants.

Cette disparité est confirmée par Mattice et Zittel (1976) citant plusieurs diatomées et flagellés, ainsi que les concentrations en chlore et leurs durées d'application nécessaires pour obtenir une réduction de croissance de 50 %.

En ce qui concerne l'effet du chlore résiduel, il est à noter que Khalanski (1977) trouve une réduction des teneurs en chlorophylle après chloration sur le site de la centrale de Dunkerque : la production primaire commencerait à diminuer au-dessus de 0,03 ppm de chlore résiduel pour devenir nulle à 0,05 ppm. Ces résultats peuvent être rapprochés de nos valeurs, soit respectivement 0,1 et 0,3 mg/l de chlore résiduel pour des injections de 0,5 et 1 mg/l.

D'autre part, plusieurs auteurs insistent sur l'importance expérimentale de la densité cellulaire initiale dans des études comparables aux nôtres. En effet, le fait que les cultures de *G. spencerii* puissent reprendre leur développement après une destruction importante des cellules (l'examen microscopique n'a révélé aucune cellule vivante apparente sur plusieurs échantillons) laisse supposer qu'il a subsisté dans le meilleur des cas quelques diatomées intactes ou des formes de résistance. Dans ce cas, les développements postérieurs observés seraient dus à la concentration cellulaire initiale importante. En effet, Goldman et Davidson (1977) ont observé que de telles reprises de croissance étaient directement liées à l'importance de la biomasse initiale chez *Phaeodactylum tricornutum*. De même, Videau, Khalanski et Penot (1978) montrent l'importance des concentrations initiales de *Monochrysis lutheri*, *Dunaliella primolecta* et *Phaeodactylum tricornutum* dans les mortalités cellulaires initiales, après une injection de chlore variant de 0,4 à 4 ppm.

Il ressort de nos expérimentations que la température finale atteinte, plus que l'élévation thermique elle-même, agit sur les réductions de croissance observées. Lorsque cette température finale est de 36° les retards dans le développement sont proportionnels à la durée d'exposition. Le seuil léthal 100 % de *G. spencerii* est obtenu pour 39° de température finale quelles que soient les durées d'exposition à cette valeur.

Par ailleurs, une chloration de 1 et même 0,5 mg/l ajoutée à un choc thermique provoque une destruction quasi totale des cultures. L'inhibition est très marquée, quoique plus faible, pour une chloration de 0,5 mg/l en l'absence d'élévation thermique. Actuellement, les mécanismes réels d'inhibition du phytoplancton par le chlore demeurent inconnus. De plus, les composés formés par chloration sont différents selon qu'il s'agit d'eau douce ou d'eau de mer (Eppley et Coll., 1976).

BIBLIOGRAPHIE

- BRIAND (F. J.-P.), 1975. — Effects of power-plant cooling systems on marine phytoplankton. — *Mar. Biol.*, **33** : 135-146.
- CARPENTIER (E.J.), PECK (B.B.) et ANDERSON (S.J.), 1972. — Cooling water chlorination and productivity of entrained phytoplankton. — *Mar. Biol.*, **16** : 37-40.
- DASTE (P.), KHALANSKI (M.) et NEUVILLE (D.), 1978. — Effets de facteurs thermique et chimique, liés au refroidissement des centrales nucléaires, sur quatre espèces phytoplanctoniques cultivées *in vitro*. — *C.R. Acad. Sc. Paris*, 286, Sér. D : 1911-1913.
- EPPLEY (R.W.), RENGER (E.H.) et WILLIAMS (P.M.), 1976. — Chlorine reaction with sea water constituents and the inhibition of photosynthesis of natural marine phytoplankton. — *Estuar. and coast. Mar. Sc.*, **4** : 147-161.
- FIQUET (J.M.), 1978. — Contribution à l'étude du dosage du chlore dans l'eau de mer. — *Techniques et Sciences municipales, l'Eau* : 239-245.
- GOLDMAN (J.C.) et DAVIDSON (J.A.), 1977. — Physical model of marine phytoplankton chlorination at coastal power plants. — *Envir. Sci. Technol.*, **11** (9) : 908-913.
- HIRAYAMA (K.) et HIRANO (R.), 1970. — Influences of high temperature and residual chlorine on marine phytoplankton. — *Mar. Biol.*, **7** : 205-213.

- KHALANSKI (M.), 1977. — Influence du fonctionnement d'une centrale thermique sur la production primaire planctonique du port de Dunkerque. — Journées de la thermo-écologie, Brest, 15-16 novembre 1976 : 101-144.
- MAGGI (P.), LASSUS (P.) et ABARNOU (A.), 1977. — Influence de chocs thermiques sur la croissance d'une diatomée : *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin. — Journées de la Thermo-écologie, Brest, 15-16 novembre 1976 : 65-88.
- MATTICE (J.S.) et ZITTEL (H.E.), 1976. — Site-specific evaluation of power plant chlorination. — *Journal W.P.C.F.*, **48** (10) : 2284-2308.
- SCOR-UNESCO, 1966. — Determination of photosynthetic pigments in sea water, 69 p.
- VIDEAU (C.), KHALANSKI (M.) et PENOT (M.), 1978. — Effets de la chloration sur les cultures monospécifiques de phytoplancton marin. Résultats préliminaires. — *J. Rech. Océanogr.*, **3** (2) : 19-28.
-