

# OBSERVATIONS COMPLÉMENTAIRES SUR LES CAUSES POSSIBLES DES ANOMALIES DE LA REPRODUCTION DE *CRASSOSTREA GIGAS* (THUNBERG) DANS LE BASSIN D'ARCACHON

Edouard HIS, Danièle MAURER et René ROBERT  
IFREMER - Station d'Arcachon,  
quai du Commandant-Silhouette,  
33120 Arcachon, France.

## Abstract

ABNORMALITIES IN THE REPRODUCTION OF *CRASSOSTREA GIGAS* IN BAY OF ARCACHON : COMPLEMENTARY OBSERVATIONS.

The spat production in the Bay of Arcachon has been recently disturbed. Bioassays using algae used as food for oyster larvae have shown that the organotin paints affect or inhibit growth of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans*. Fresh waters coming into the Bay and shore sediment did not affect the growth of these algae.

Bioassays as proposed by WOELKE (1967) using embryos and larvae of *Crassostrea gigas* have shown that the quality of the sea water from Arcachon harbour has been improved a few months after the use of organotin paints has been prohibited. Likewise fresh waters are free from any micropollutants which could drastically disturb the reproduction of *C. gigas* in the Bay.

## Résumé

Le bassin d'Arcachon est un centre conchylicole dont le potentiel reproducteur de l'huître *Crassostrea gigas* a été affecté par des anomalies de milieu en relation avec le régime trophique des végétaux. La technique des bio-essais appliquée aux algues "fourrage" a permis de constater que les peintures antisalissure à base de sels organométalliques de l'étain exercent une action défavorable sur *Isochrysis galbana* et *Chaetoceros calcitrans*. Les eaux de ruissellement qui se déversent dans la baie et les sédiments littoraux ne semblent pas contenir d'éléments toxiques susceptibles de perturber le développement des algues "fourrage".

La technique des bio-essais préconisée par WOELKE (1967) et appliquée aux embryons et aux larves de *C. gigas* montre que : la qualité biologique de l'eau du port de plaisance d'Arcachon a été améliorée à la suite de l'interdiction des peintures antisalissure à base de TBT ; les eaux de ruissellement ne contiennent pas de micropolluants susceptibles de perturber profondément la reproduction des huîtres et enfin les sites à mortalité estivale d'huîtres ne sont pas non plus le siège d'accumulation d'éléments toxiques.

## Introduction.

Le bassin d'Arcachon est un centre de captage de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*. De 1976 à 1981, des anomalies dans le développement des végétaux ont rendu le captage aléatoire, voire inexistant. Il en a résulté une crise grave de l'ostréiculture, avec la disparition de près de la moitié des exploitations.

Les recherches effectuées à ce jour ont permis d'établir les faits suivants (HIS et ROBERT, 1985) : la maturation des géniteurs de la baie et les pontes permettaient la formation des végétaux parfaitement normales dans le milieu naturel ; la technique des bio-essais de WOELKE (1967) montrait que la « qualité biologique » de l'eau dans les principaux chenaux était satisfaisante vis-à-vis de la reproduction des huîtres, malgré le danger que constituait des peintures antisalissure à base de sels organo-métalliques de l'étain (TBT, toxique à des concentrations aussi basses que  $5 \cdot 10^{-2} \mu \cdot l^{-1}$ ). Enfin, des larves prélevées dans le bassin, élevées en eau de la baie, se développaient normalement en présence d'une nourriture appropriée ; à l'inverse,

dans le milieu naturel, elles n'atteignaient pas le stade umboné. Les anomalies pouvaient donc s'expliquer par une perturbation du régime trophique des véligères.

La présente étude a pour but de préciser certains points particuliers. Les composés organométalliques de l'étain ont-ils pu perturber le développement du nanoplancton du bassin et les mesures restrictives relatives à l'utilisation des peintures qui les contiennent ont-elles été suivies d'effets sur la qualité de l'environnement ? Malgré la bonne « qualité biologique » de l'eau dans les principaux chenaux de la baie, les zones plus littorales, soumises aux apports d'eaux douces d'origine continentale, contiennent-elles des éléments toxiques vis-à-vis des œufs et des embryons de *C. gigas*, ou pouvant perturber le développement du nanoplancton (influence de la culture du maïs — ou maïssiculture — et de la sylviculture) ? D'autre part, les mortalités d'huîtres âgées d'un an qui sévissent certaines années en période estivale (MAURER et COMPS, 1984) traduisent-elles la présence dans l'eau d'éléments toxiques ?

Ces problèmes sont abordés par la technique des bio-essais à l'aide de culture d'algues monocellulaires utilisées pour l'alimentation des larves en milieu contrôlé, mais aussi à l'aide du matériel biologique particulièrement sensible que constituent les œufs et les embryons de *C. gigas*.

## Techniques.

### Les cultures d'algues.

La plupart des observations ont été effectuées à l'aide de cultures monospécifiques d'*Isochrysis galbana* (Prymnesiophycée) et de *Chaetoceros calcitrans* (Bacillariophycée) ; en ce qui concerne l'action des peintures antisalissure à base de sels organométalliques de l'étain, des observations complémentaires ont été faites sur *Tetraselmis (Platymonas) suecica* (Prasinophycée) et *Phaeodactylum tricornutum* (Bacillariophycée).

Les cultures sont effectuées en eau de mer filtrée à 0,2 µm, enrichie en sels minéraux et autoclavée, la salinité étant ramenée à la valeur de 27 ‰. Les milieux suivants ont été retenus.

- Milieu de Conway (WALNE, 1966) à base de sels minéraux et contenant les vitamines B1 et B12 ; dans le cas des Diatomées, l'apport de sels comprend du métrasilicate de sodium (LAING, 1979). Ce milieu a été utilisé pour tester la « qualité » des eaux de ruissellement qui se déversent dans la partie continentale de la baie (fig. 1) ; dans ce cas, les témoins sont effectués à l'aide d'eau prélevée à l'Océan, à l'intérieur du bassin (2 milles au large du Cap-Ferret) ; la salinité est ramenée à la valeur de 27 ‰ par adjonction d'eau distillée (l'eau de ruissellement remplaçant cette dernière dans les tests).

- Milieu de Erd-Schreiber, modifié comme le précédent par adjonction de métrasilicate de sodium pour permettre la croissance des Diatomées (LAING, 1979). Il contient de l'extrait de sol ; cette caractéristique a été mise à profit pour rechercher la présence d'éventuels micropolluants dans les sédiments prélevés sur le pourtour du bassin, dans sa partie continentale (fig. 1).

Les cultures sont effectuées dans des erlenmeyers de 2 litres contenant un litre de milieu ; elles sont maintenues sous éclairage artificiel permanent à la température de 20 ± 1° C. Chaque erlenmeyer reçoit un inoculum provenant d'une même culture de l'algue étudiée, en fin de phase exponentielle de croissance ; une agitation est effectuée manuellement trois fois par jour.

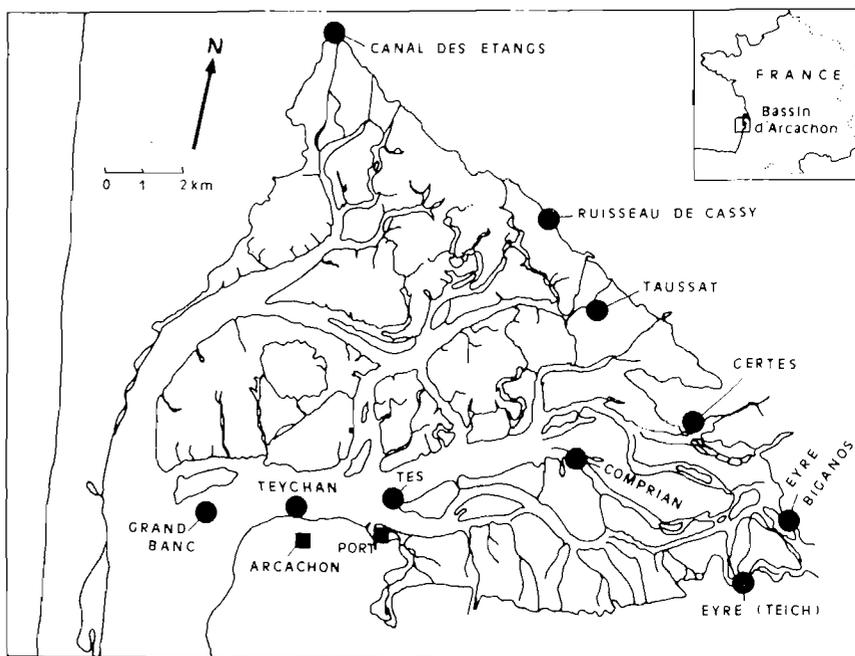


FIG. 1. — Carte du bassin d'Arcachon, sur laquelle sont portés les lieux de prélèvement d'eau ou de sédiment.

Bay of Arcachon showing sampled areas sea water and sediment.

L'influence des peintures antisalissure à base de sels organo-métalliques de l'étain a été étudiée sur milieu de Conway, soit par l'adjonction de produit chimiquement pur (acétate de tributylétain, TBT, sous forme de poudre), soit à l'aide de plaquettes de verre stériles recouvertes de surfaces de peinture du commerce ("International TBT antifouling") comprises entre  $1 \text{ cm}^2$  et  $1/100 \text{ cm}^2$ . Les deux sont ajoutés aux cultures stérilement, lors de l'ensemencement ; dans le cas des plaquettes de verre le ou les produits toxiques sont libérés dans le milieu par lixiviation (CALLAME, 1976). Les densités cellulaires dans les cultures ont été mesurées tous les trois ou quatre jours à l'aide d'un compteur de particules (coultercounter, ZBIC de chez Coultronics).

### Les élevages larvaires de *C. gigas*.

Les techniques ont été décrites par ailleurs (ROBERT *et al.*, 1982) ; seules les grandes lignes seront rappelées. Dans tous les cas, les géniteurs du bassin, dont la qualité de reproducteurs a été testée précédemment (HIS et ROBERT, 1985) ont été utilisés. Les ovocytes, récupérés puis rincés sur tamis en acier inoxydable stérile de  $32 \mu\text{m}$ , sont comptés puis répartis à raison de  $30\,000 \cdot \text{l}^{-1}$  dans des béciers stériles contenant deux litres d'eau de mer filtrée à  $0,2 \mu\text{m}$  ; les fécondations sont réalisées par adjonction de 3 ml d'une suspension dense de sperme. Puis les élevages en double exemplaire sont transférés de la température ambiante ( $20 \pm 1^\circ \text{C}$ ) à celle de  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  ; ils sont maintenus à l'obscurité. Les véligères (stade atteint en 24 heures) sont maintenues à l'obscurité. On procède au changement d'eau des élevages et les larves D obtenues sont réparties à raison de  $8\,000 \cdot \text{l}^{-1}$ . Ultérieurement, l'eau est changée tous les deux jours pendant la durée des observations (9 à 12 jours). Compte tenu du faible volume utilisé, les élevages ne sont pas aérés par bullage, ce qui amènerait par perturbation mécanique une action défavorable sur la croissance (HELM et SPENCER, 1972).

Les élevages sont nourris quotidiennement sur la base de 100 cellules par  $\mu\text{l}$  d'élevage à l'aide de cultures monospécifiques d'*I. galbana*, *C. calcitrans* et *T. suecica* ; ces dernières sont apportées aux véligères lorsque leur hauteur est d'environ  $120 \mu\text{m}$ . Cependant, en 1983, *Isochrysis aff. galbana* (*Isochrysis* "Tahiti", ou T-ISO) a été substituée à la première ; son utilisation, sous nos conditions expérimentales, semble se traduire par une moins bonne croissance larvaire. Elevage-témoin et élevage-test étant chaque fois nourris de la même façon, la comparaison des différentes hauteurs larvaires obtenues reste possible pour chaque série expérimentale.

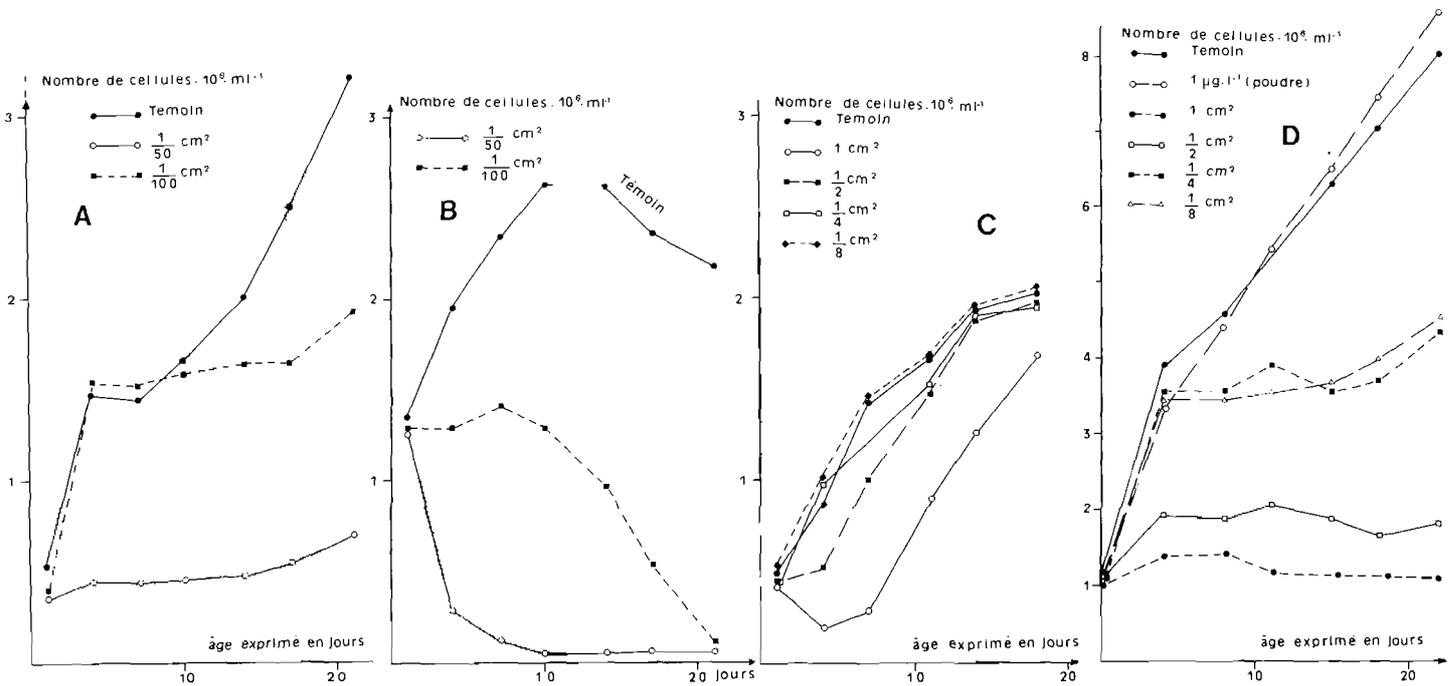


FIG. 2. — Action du TBT, peinture antisalissure à base de sels organométalliques de l'étain, sur la croissance d'*Isochrysis galbana* (A) et de *Chaetoceros calcitrans* (B) (surfaces actives testées : 0 (témoin)  $1/50 \text{ cm}^2$  et  $1/100 \text{ cm}^2$ ) et *Tetraselmis suecica* (C), *Phaeodactylum tricornutum* (D) (surfaces actives testées :  $1 \text{ cm}^2$  ;  $1/2 \text{ cm}^2$  ;  $1/4 \text{ cm}^2$  et  $1/8 \text{ cm}^2$  et TBT sous forme de poudre, à la concentration de  $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ). Les concentrations cellulaires sont exprimées en nombre de cellules  $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$  du premier au 21<sup>e</sup> jour de culture.

The effects of TBT antifouling paints on the growth (cell.  $10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ ) of *I. galbana* (A) and *C. calcitrans* (B) and *Tetraselmis suecica* (C), *Phaeodactylum tricornutum* (D). Coatings with paints ranging from 0 (control) to  $1/100 \text{ cm}^2$  ; experiments have also been made with TBT as chemical compound ( $P = 1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

Au cours des différents changements d'eau, les observations suivantes sont effectuées :

- pourcentages de larves D obtenues (premières 24 heures) ; pourcentages de larves anormales, les anomalies pouvant affecter le velum (présence de proliférations) ou la coquille (charnière concave, formation incomplète ou indentations à l'une des valves) ;
- observations sur le comportement des larves (nage, mobilité excessive ou non, coloration du tractus digestif traduisant la prise en charge ou non de la nourriture) ; pourcentage de mortalité ;
- étude de la croissance : cinquante larves sont mesurées sur cliché photographique : la hauteur de la dissoconque (plus grande dimension du sommet de l'umbo au bord ventral) est mesurée à  $1,5 \mu\text{m}$  près ; les hauteurs moyennes sont calculées sur 50 individus par élevage avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95 %. Une analyse de variance a été effectuée en fin d'observations afin de tester la signification des différences observées.

Seules sont poursuivies les expériences au cours desquelles les élevages-témoins présentent des pourcentages de larves anormales inférieurs à 5 % et des pourcentages de mortalité inférieurs à 10 % pendant la durée des observations. Comme pour les algues, lorsqu'il s'agit de mettre en évidence l'éventuelle présence de micropolluants, les élevages-témoins sont effectués en eau de mer puisée soit à la pointe du Tès, soit à 2 milles au large du Cap-Ferret ; la salinité est ramenée à 27 ‰ par adjonction d'eau distillée (témoins) ou de l'eau de ruissellement étudiée.

## Résultats.

### Influence sur les cultures d'algues "fourrage" unicellulaires.

#### Action du TBT.

*Isochrysis galbana*. — Deux séries d'observations ont été effectuées, d'une part avec du produit chimiquement pur, l'acétate des tributylétain (concentration de  $1 \mu\text{g.l}^{-1}$ ), d'autre part avec des surfaces actives de peinture de  $1 \text{ cm}^2$ ,  $1/4 \text{ cm}^2$  et  $1/8 \text{ cm}^2$ . Dans les cultures, on constate que le produit pur n'a aucune action sur les multiplications cellulaires ; par contre, la peinture inhibe totalement la croissance, le phénomène étant net dès le second jour d'observations.

Des surfaces moins importantes ont donc été utilisées. Avec les valeurs de  $1/16$  et  $1/32 \text{ cm}^2$ , l'inhibition de la pousse des algues a aussi été constatée à deux reprises. Enfin, les valeurs de  $1/50$  et  $1/100 \text{ cm}^2$  ont aussi été testées (fig. 2A) ; pour la première, l'action du produit est néfaste dès les premiers jours, aucune pousse n'étant observée dans les erlenmeyers ; pour la seconde, la pousse de l'algue est très légèrement supérieure à celle des témoins pendant la première semaine, puis un blocage se manifeste et les densités cellulaires, le 21<sup>e</sup> jour, ne sont que de  $1,8 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$  contre  $3,21 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$  dans les témoins.

*Chaetoceros calcitrans*. — Comme précédemment l'acétate de tributylétain à la concentration de  $1 \mu\text{g.l}^{-1}$  n'a pas d'action. Deux séries d'observations ont été réalisées avec des surfaces peintes comprises entre  $1 \text{ cm}^2$  et  $1/32 \text{ cm}^2$  puis avec  $1/50 \text{ cm}^2$  et  $1/100 \text{ cm}^2$  (fig. 2B). Il y a inhibition totale du développement de l'algue au cours des quatre premiers jours.

*Phaeodactylum tricornutum* (fig. 2C). — L'acétate de tributylétain chimiquement pur ( $1 \mu\text{g/l}$ ) n'a aucune action. Les surfaces peintes de  $1 \text{ cm}^2$  et  $1/2 \text{ cm}^2$  provoquent une inhibition de la croissance algale. Les surfaces de  $1/4$  et  $1/8 \text{ cm}^2$  entraînent une réduction de près de la moitié des multiplications cellulaires de la Bacillariophycée (concentrations finales de  $4,37 \cdot 10^6$  et  $4,70 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$  contre  $8,1 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$  dans les témoins).

*Tetraselmis suecica* (fig. 2D). — Comme dans les cas précédents, le produit chimique pur n'a pas eu d'action.

En résumé, pour ces deux dernières espèces d'algues, avec des surfaces actives variant de  $1$  à  $1/8 \text{ cm}^2$ , les résultats obtenus sont très voisins. Ainsi, la peinture agit en fonction de la surface utilisée : à  $1 \text{ cm}^2$  les densités cellulaires ( $1,32 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$ ) représentent environ la moitié de celles des témoins ( $2,05 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$ ) ; à  $1/2 \text{ cm}^2$  et à  $1/4 \text{ cm}^2$  elles s'en rapprochent fortement ( $1,94$  et  $1,02 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$ ), et à  $1/8 \text{ cm}^2$  sont même légèrement supérieures ( $2,15 \cdot 10^6 \text{ cel. ml}^{-1}$ ).

#### Incidence des eaux douces littorales sur *I. galbana* et *C. calcitrans* (fig. 3).

Toutes les cultures étaient encore en phase exponentielle en fin d'observation. Les multiplications cellulaires chez *C. calcitrans* (fig. 3A) ont été nettement plus actives en présence des différentes eaux douces

puisque les valeurs finales sont comprises entre  $8,39.10^6$  et  $9,65.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup> contre  $5,96.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup> dans les témoins. Le phénomène est moins marqué chez *I. galbana* (fig. 3B) : l'eau de l'Eyre donne une valeur très proche de celle des témoins (7,41 et  $7,52.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup> respectivement) ; la croissance est meilleure dans les deux autres cas : 8,75 et  $8,88.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup> avec les eaux du ruisseau de Cassy et du canal des Etangs.

*Incidence des sédiments littoraux sur I. galbana et C. calcitrans* (fig. 4).

Des sédiments littoraux ont été prélevés au mois de mai 1983 à l'émonctoire des principales arrivées d'eau douce dans le bassin afin de doser par voie chimique les éventuels pesticides et herbicides présents (Anonyme, 1983) ; parallèlement sur ces mêmes sites, des échantillons de sédiments ont été utilisés pour préparer de l'extrait de sol (milieu de Erd-Schreiber), afin de tester leur aptitude à permettre la croissance des algues monocellulaires ; les témoins étaient obtenus à l'aide de l'habituel sol de jardin.

Pour les deux algues, la phase de plateau est atteinte le 20<sup>e</sup> jour. En ce qui concerne *I. galbana* (fig. 4A), les concentrations cellulaires atteintes en fin d'observations sont voisines pour les témoins ( $1,81.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup>)

et les sédiments de Certes ( $1,99.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup>) ; ceux de l'estuaire de l'Eyre permettent d'obtenir une valeur nettement supérieure ( $2,73.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup>). Quant à *C. calcitrans* (fig. 4B), ses multiplications cellulaires sont pratiquement deux fois plus importantes en présence des sédiments littoraux, avec une légère supériorité pour ceux de l'Eyre ( $5,18.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup>), contre  $4,63.10^6$  (certes) et  $2,66.10^6$  cel. ml<sup>-1</sup> (témoins).

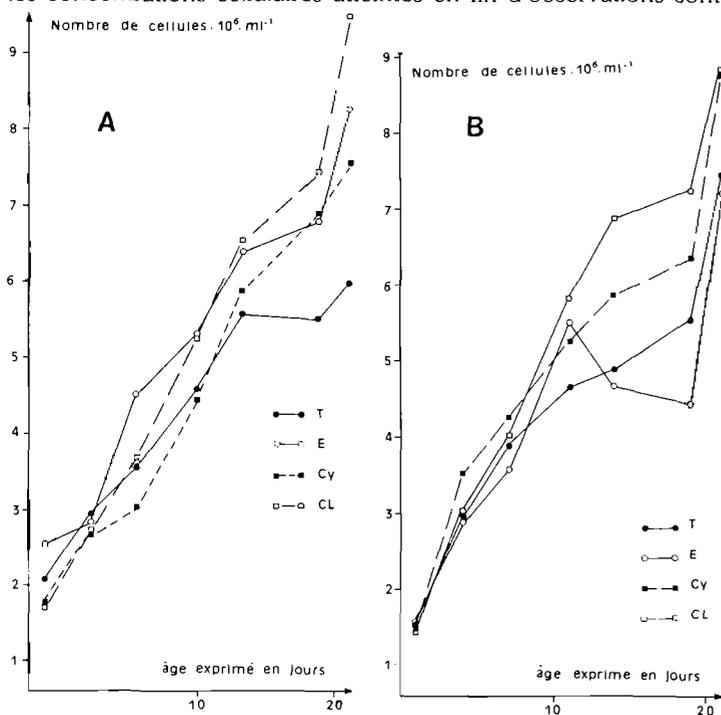
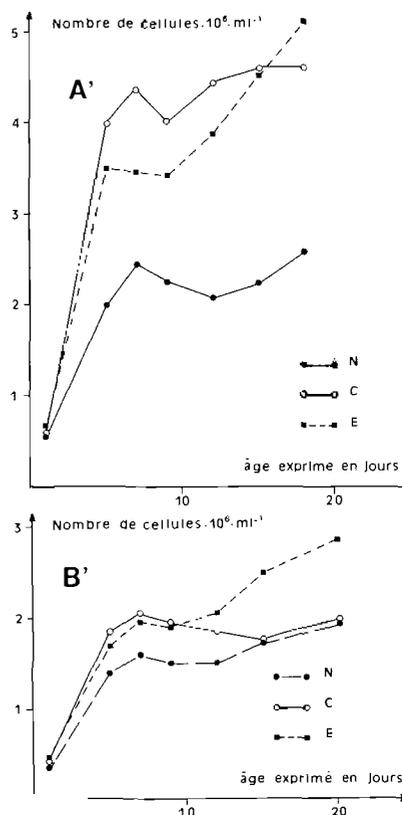


FIG. 3. — Influence des eaux de ruissellement sur la croissance (nombre de cellules.  $10^6$ .ml<sup>-1</sup>) d'*Isochrysis galbana* (A) et de *Chaetoceros calcitrans* (B). Les algues ont été cultivées sur milieu de Conway préparé à l'aide d'eau de l'Océan prélevée à 5 milles du Cap Ferret ; la salinité était ramenée à la valeur de 27 ‰ par adjonction d'eau distillée (T) ou d'eau douce prélevée dans l'Eyre (E), le ruisseau de Cassy (Cy) ou le canal des Etangs (CL) (expérience du 8-7-1983).

Influence of fresh water from different places on growth (cell.  $10^6$ .ml<sup>-1</sup>) of *Isochrysis galbana* (A) and *Chaetoceros calcitrans* (B) ; the salinity of the Conway medium had been adjusted to 27 ‰ with distilled water (controls) and different fresh waters from the Eastern part of the Bay.

FIG. 4. — Croissance de *Chaetoceros calcitrans* (A') et d'*Isochrysis galbana* (B') sur milieu de Erd-Schreiber préparé avec de l'extrait de sol : sol de jardin (N), sédiments prélevés en bordure du bassin d'Arcachon à Certes (C) et dans l'estuaires de l'Eyre (E) ; les concentrations cellulaires sont exprimées en nombre de cellules  $10^6$ .ml<sup>-1</sup> du jour d'ensemencement au 20<sup>e</sup> jour de culture (expérience du 4-5-1983).

The growth (cells.  $10^6$ .ml<sup>-1</sup>) of *C. calcitrans* (A') and *I. galbana* (B') with Erd-Schreiber medium prepared with different soil extracts from the Eastern shore of the Bay (N : control).

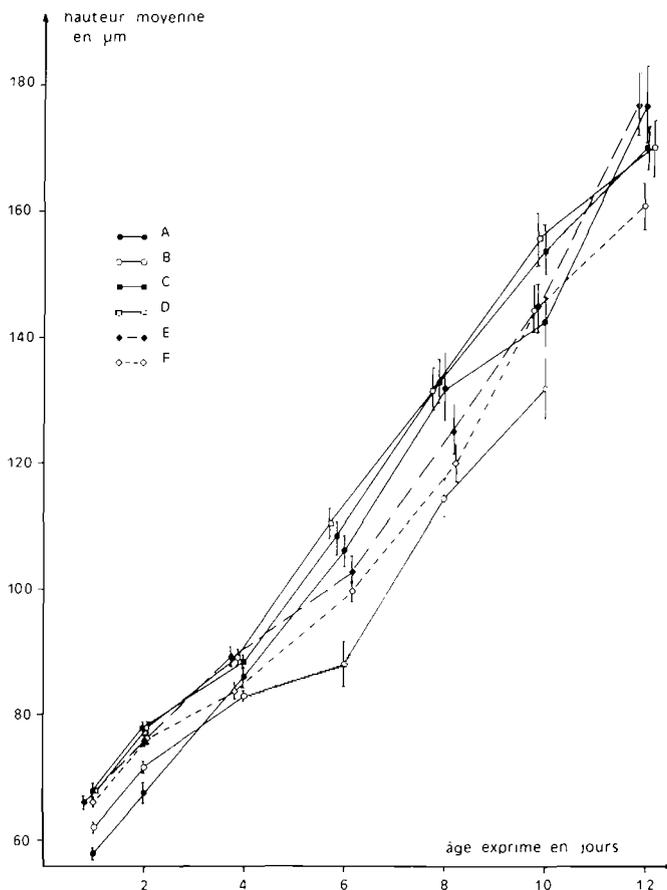


**Observations sur les embryons et les larves de *Crassostrea gigas*.**

*Influence de la qualité de l'eau du bassin d'Arcachon (eau du port de plaisance).*

En 1981, pontes, fécondations, développement et croissance larvaire ont été obtenus en eau de mer prélevée dans le port de plaisance d'Arcachon au cours de l'été 1981, deux heures après la pleine mer, par marée de vives eaux. Les témoins ont été réalisés avec l'eau du chenal principal du Teychan (pointe du Tès). Les pourcentages de larves anormales ont été relativement importants dans l'eau étudiée (40 %) ; les mortalités sont restées faibles jusqu'au dixième jour (inférieures à 15 %), mais ont atteint 40 % le douzième jour, en fin d'observations (contre 4 % dans les témoins) et ont amené la disparition des véligères anormales (fig. 5). On observe en effet la persistance de larves D dont la hauteur est pratiquement stationnaire (valeur moyenne de  $132,58 \pm 4,70 \mu\text{m}$  contre  $142,18 \pm 4,18 \mu\text{m}$  dans les témoins le dixième jour) ; de plus, l'hétérogénéité de la taille des larves dans les élevages avant que n'interviennent les mortalités caractérise un milieu perturbé par la présence de micropolluants (HIS et ROBERT, 1982). Cette différence est significative (tabl. 1).

En 1982, les observations ont été effectuées, au printemps, trois mois après l'interdiction des peintures antisalissure. L'eau du port a été prélevée à pleine mer, à mi-marée et à basse mer (marée de vives eaux) ; celle des témoins par deux heures de descendant à la pointe du Tès. Dans tous les cas, les pourcentages d'anomalies larvaires et de mortalités sont restés faibles (inférieurs à 12 % pendant la durée totale d'observations de douze jours). L'étude de la croissance des véligères (fig. 5) montre que le développement est normal dans tous les cas ; l'hétérogénéité de la population en ce qui concerne les tailles des véligères n'existent plus ; l'action d'un micropolluant agissant sur le développement larvaire ne se manifeste donc plus ; néanmoins, un retard de croissance est noté dans les élevages réalisés en eaux prélevées à basse mer dans le port (hauteur moyenne de  $161,79 \pm 5,31 \mu\text{m}$  contre  $167,98 \pm 5,48 \mu\text{m}$  dans les témoins et tabl. 1).



	Date	Degrés de liberté	F	p
Eau du port d'Arcachon	1981	1	9,30	0,01
	1982 A B	3 3	5,43 2,66	0,01 NS
Eau de ruissellement	15-07-83 C D	3 2	8,13 2,30	0,001 NS
	20-07-83	3	13,55	0,001
	Eau d'un site à mortalité estivale d'huîtres adultes	06-1982 07-1983	1 1	8,74 0,02

NS : non significatif.

TABLE 1. — Analyse de variance sur les hauteurs moyennes des véligères de *C. gigas* obtenues le dernier jour d'expérience. A : témoin, eau prélevée à pleine mer, à mi-marée et à basse mer ; B : témoin, à pleine mer et à mi-marée ; C : témoin, eau du canal, de Cassy et de l'Eyre ; D : témoin, eau du canal et de Cassy.

Analysis of variance on mean shell width of *C. gigas* veligers, on the last day of experiment. A : standard, high tide, ebb tide and low tide sea water ; B : standard, high tide and ebb tide sea water ; C : standard, canal, Cassy and Eyre water ; D : standard, canal Cassy water.

FIG. 5. — Hauteurs moyennes ( $\mu\text{m}$  avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95 %) des larves de *C. gigas* élevées en eau de mer prélevée : A : dans le chenal du Teychan, au Tès (témoin) le 15-7-81 ; B : dans le port de plaisance d'Arcachon le 15-7-81 ; C : dans le chenal du Teychan (Tès) en avril 1982 (témoin) ; D, E, F : dans le port de plaisance d'Arcachon (avril 1983) respectivement à la pleine mer, par 3 heures de descendant et à basse mer.

*Qualité des eaux douces du secteur continental.*

Deux séries d'observations ont été effectuées les 15 et 26 juillet 1983. Les eaux de ruissellement provenaient du canal des Etangs, du ruisseau de Cassy (drainant une zone de culture de maïs) et du delta de l'Eyre à Biganos (15 juillet) ou au Teich (26 juillet).

- Expérience du 15 juillet 1983 (fig. 6). — Les larves D, obtenues dans les premières 24 heures après les pontes, ont été normales, dans tous les cas. Les mortalités ont été peu importantes en fin d'observations ; elles sont comprises entre 1 et 2 % (eau de Cassy et de l'Eyre) et 9 à 10 % (témoins et eau du canal des Etangs). La plupart des végigères sont umbonées dès le dixième jour ; bien qu'il n'existe que peu de différences entre les élevages, les larves élevées en présence d'eau du canal des Etangs (hauteur moyenne de  $132,64 \pm 6,01 \mu\text{m}$ ) ont mieux poussé que les témoins ( $125,56 \pm 3,72 \mu\text{m}$ ) et que les élevages en eau du ruisseau de Cassy ( $127,31 \pm 4,58 \mu\text{m}$ ) ; la valeur la plus basse obtenue avec les prélèvements du delta de l'Eyre ( $118,77 \pm 3,80 \mu\text{m}$ ) est seule significativement différente des autres (tabl. 1).

- Expérience du 26 juillet 1983 (fig. 6). — Les larves D obtenues 24 heures après les fécondations sont pour la plupart normales (4 % d'anomalies dans les témoins et de 2 à 7 % dans les tests). Les pourcentages de mortalités en fin d'observations sont les suivants : nuls dans les témoins, inférieurs à 2 % en eau du canal des Etangs, 17 % avec les prélèvements du ruisseau de Cassy et 42 % avec ceux du delta de l'Eyre ; dans ces deux derniers cas, ils sont donc relativement importants. Les hauteurs moyennes plus faibles que dans les élevages-témoins ( $127,79 \pm 6,77 \mu\text{m}$ ) sont par ordre décroissant de  $117,8 \pm 2,6 \mu\text{m}$  (canal des Etangs),  $111,3 \pm 2,6 \mu\text{m}$  (ruisseau de Cassy) et enfin  $107 \pm 4,8 \mu\text{m}$  (estuaire de l'Eyre, le Teich) (tabl. 1).

FIG. 6. — Hauteurs moyennes ( $\mu\text{m}$ , avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95 %) des végigères de *C. gigas* élevées : A témoin : en eau de l'océan dont la salinité a été ramenée à 27 ‰ par adjonction d'eau distillée ; B, C et D : en eau de mer dont la salinité a été ramenée à 27 ‰ avec de l'eau prélevée dans le canal des Etangs (B), le ruisseau de Cassy (C) et l'Eyre à Biganos (D) (1 expérience du 15-7-1983) ; E, F et G : en eau de mer dont la salinité a été ramenée à 27 ‰ avec de l'eau prélevée dans le canal des Etangs (E), le ruisseau de Cassy (C) et l'Eyre (Le Teich, G) ; Ta : à Taus-sat (2 expérience du 26-7-1983).

The mean shell width ( $\mu\text{m} \pm 95\%$  confidence limit) of *C. gigas* larvae in sea water with distilled water (control A) and in sea water with fresh water from canal des Etangs (B), Cassy (C) and the River Eyre (D) (15-7-83), from canal des Etangs (E), Cassy (C) and the River Eyre, le Teich (G) and Taus-sat (Ta) 26-7-83.

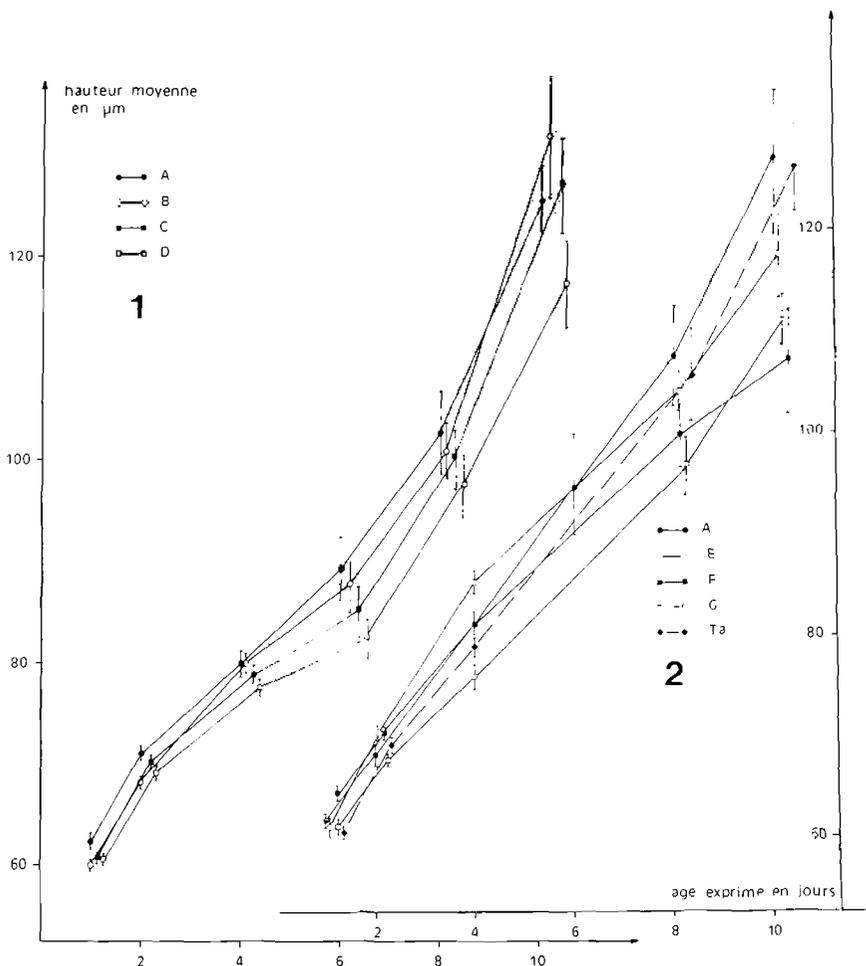


FIG. 5 (suite). — Average shell width ( $\mu\text{m} \pm 95\%$  confidence limit) of *C. gigas* larvae, grown in sea water from different places ; control (Tés 15-7-81, A and 4-82, C) : Arcachon harbour 15-7-81 (B) and April 1982 (D, E, F, at high tide, ebb tide and low tide respectively).

*Qualité de l'eau de la baie prélevée sur un site à mortalités estivales de C. gigas.*

De l'eau de mer a été prélevée au-dessus d'un parc où sévissaient des mortalités sur les huîtres, à Taussat, par deux heures de descendant, le 21 juin 1982 et le 26 juillet 1983, afin de tester la « qualité biologique » de l'eau.

En 1982, les élevages-témoins ont été conduits en eau prélevée à la pointe du Tès. Les larves D, obtenues 24 heures après les fécondations, n'ont présenté qu'un très faible pourcentage d'anomalies (1,5 % dans l'eau de Taussat) ; de même, pendant les dix jours d'observations, les mortalités ont été soit nulles (témoins), soit inférieures à 2 %. Les croissances larvaires ont été voisines (fig. 7) bien que significativement différentes (tabl. 1), avec des hauteurs moyennes de  $191,76 \pm 6,31 \mu\text{m}$  (témoins) et  $180 \pm 4,42 \mu\text{m}$ . On ne peut absolument pas parler de blocage de croissance dans le cas des élevages en eau testée.

En 1983, les élevages-témoins ont été effectués en eau de mer prélevée à l'extérieur du bassin, à 2 milles au large du Cap-Ferret ; la salinité a été ajustée à celle de l'eau testée (27 ‰) par adjonction d'eau distillée. Les pourcentages de larves anormales ont été encore très faibles : 1,5 % dans les témoins et 6 % dans les élevages-tests ; dans les deux cas, les pourcentages de mortalité sont restés inférieurs à 5 % pendant les dix jours d'observations. Fin juillet 1983, toutes les larves étaient umbonées, avec des hauteurs moyennes non significativement différentes ( $127,79 \pm 6,77 \mu\text{m}$  et  $127,20 \pm 4,10 \mu\text{m}$  (tabl. 1, fig. 6).

**Discussion.**

Pendant que sévissaient les anomalies de la reproduction chez *C. gigas* dans le bassin d'Arcachon de 1977 à 1981, il avait été démontré que l'eau de la baie « présentait une qualité biologique » suffisante pour permettre la formation et la croissance des véligères (HIS et ROBERT, 1985). Les anomalies de la reproduction pouvaient s'expliquer par une perturbation du régime trophique des véligères. En effet, aux teneurs en TBT qui perturbent leur croissance, les larves ne s'alimentent pas, même en présence d'algues fourrage de bonne qualité ; par contre, lorsque les anomalies se manifestaient, les larves prélevées dans le milieu naturel et mises en élevage au laboratoire en eau de la baie présentaient une croissance normale ; ceci nous avait amenés à supposer l'absence, dans le milieu naturel, de certaines formes nanoplanctoniques nécessaires au bon déroulement de la vie pélagique chez *C. gigas*.

Nous avons démontré que les peintures antisalissure à base de TBT pouvaient inhiber la croissance de certaines souches du nanoplancton. Aucune des algues utilisées n'a été perturbée lorsqu'un sel organométallique chimiquement pur (acétate de tributylétain) a été utilisé à la concentration de  $1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ , valeur pour laquelle l'embryogénèse est fortement perturbée chez *C. gigas* (HIS *et al.*, 1983). Par contre, une perturbation des multiplications cellulaires est provoquée par des surfaces de peintures à base de sels organostanniques aussi faibles que  $1/100 \text{ cm}^2$ , et ce dès les premiers jours d'observations. La quantité de toxique relarguée par ce type de

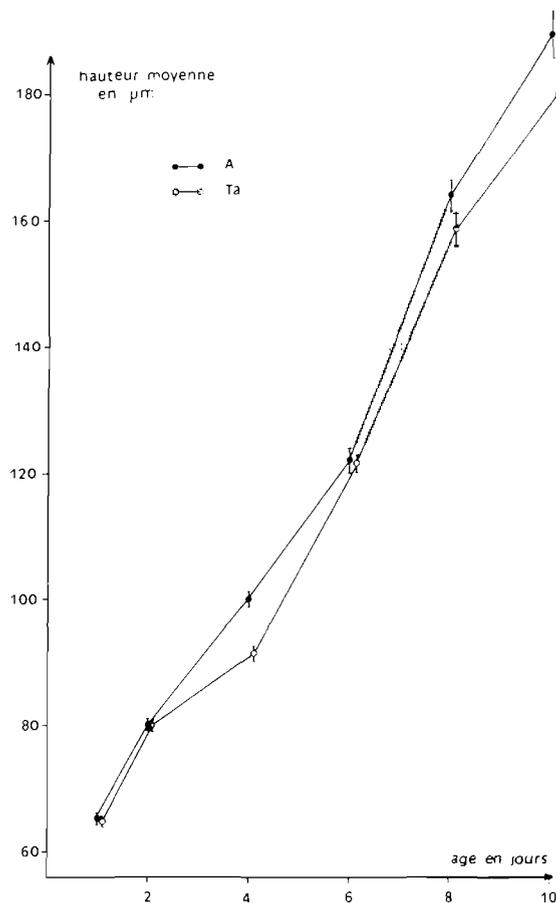


FIG. 7. — Hauteurs moyennes ( $\mu\text{m}$  avec intervalle de confiance au seuil de sécurité de 95 %) des véligères de *C. gigas* élevées en eau du bassin d'Arcachon prélevée au Tès (témoin A) et à Taussat (Ta) - juin 1982.

Shell width ( $\mu\text{m} \pm 95 \%$  confidence limit) of *C. gigas* larvae in sea water from Le Tès (control A) and Taussat (Ta) - June 1982.

peinture est de  $1,2 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$  par jour (SMITH, 1981), soit pour  $1/100 \text{ cm}^2$  seulement  $1,2\cdot 10^{-2} \mu\text{g}$ . Les peintures antisalissure pourraient donc être plus toxiques sur certaines souches du nanoplancton que le produit chimiquement pur. Le TBT subit une photolyse par action des rayons ultra-violet de la lumière blanche utilisée ; le phénomène s'exerce de la même façon sur les deux formes d'organostanniques utilisés, poudre ou peinture, bien que la première soit apportée en une seule fois en début d'observations, et que la seconde soit relarguée en permanence par lixiviation. Cependant, le blocage des multiplications cellulaires noté dès les premiers jours d'observations suggère un accroissement de toxicité lié soit à l'action des solvants, soit à des phénomènes de synergie entre ces derniers et le TBT. Par ailleurs, les différentes souches testées n'ont pas la même sensibilité au produit libéré dans le milieu de culture. *T. suecica* s'est avérée la moins sensible (perturbation avec  $1 \text{ cm}^2$  de peinture), puis *Ph. tricorutum* pour laquelle une croissance est encore observée à  $1/8 \text{ cm}^2$ , puis *I. galbana* (multiplications cellulaires réduites de moitié avec  $1/100 \text{ cm}^2$ ), tandis que *C. calcitrans* n'a pu être cultivée en présence de peinture. Or, il s'avère que ces deux dernières algues ont, en milieu expérimental, la meilleure qualité nutritionnelle pour les larves D de *C. gigas*. La réponse des algues unicellulaires aux herbicides, par exemple, varie selon l'espèce (HOLLISTER et WALSH, 1973) ; le fait se vérifie en ce qui concerne l'action des peintures antisalissure à base de TBT.

Compte tenu de ces dernières observations, on peut penser que dans le bassin d'Arcachon, ces peintures ont eu une influence défavorable sur la croissance des algues "fourrage" utilisées par les jeunes véligères de l'huître japonaise.

La technique des bio-essais a permis de tester la qualité des eaux douces qui se déversent dans le secteur continental ; le bassin joue en effet le rôle de réceptacle d'éventuels éléments toxiques issus du drainage de l'arrière-pays, et qui peuvent être véhiculés soit dans leur phase soluble, soit dans leur phase en suspension - particules argileuses et matière organique en particulier (MARTIN *et al.*, 1976). L'intensification de la culture du maïs à proximité du littoral pose le problème de l'usage intensif des herbicides et des pesticides (MICHEL et ABARNOU, 1983) ; de même, les traitements liés à la sylviculture et les opérations de démoustication peuvent avoir une incidence sur la qualité des eaux de ruissellement. Or, que ce soit à l'issue des traitements printaniers des zones de culture ou en période estivale, les eaux douces testées ne contiennent aucun élément toxique susceptible de perturber ou d'inhiber les multiplications cellulaires des algues-test.

De nombreux auteurs ont montré que les sédiments des zones littorales jouent un rôle important dans la rétention des micropolluants. On sait à l'inverse, que le milieu de Erd-Schreiber, et en particulier l'extrait de terre qui entre dans sa composition, permet la croissance de nombreuses espèces d'algues unicellulaires qui n'ont pu être cultivées sur d'autres milieux (MCLACHLAN, 1973). L'extrait de sol apporte différentes substances biotiques (vitamines en particulier) et les acides humiques contenus jouent un rôle de chélateur vis-à-vis des ions métalliques ; l'autoclavage nécessaire à sa préparation libère les éléments toxiques du sol (DROPP, 1969). L'utilisation des sédiments littoraux, prélevés sur le pourtour du bassin, a permis de constater que ces derniers ne contenaient pas d'éléments toxiques susceptibles de perturber les multiplications cellulaires des algues-test.

Bien que les anomalies de la reproduction n'aient pu être attribuées à l'action directe d'un micropolluant sur les véligères, les larves de *C. gigas* ont été utilisées comme organisme sentinelle (WOELKE, 1967) pour tester la qualité de l'eau sur le pourtour du bassin.

D'une part, une décontamination des eaux du port de plaisance d'Arcachon, à la suite de l'interdiction des peintures antisalissure à base de TBT, a été mise en évidence. La comparaison des données obtenues par l'utilisation de l'eau du port prélevée avant (1981) et après (1982) les mesures restrictives montre que le déséquilibre des populations larvaires et le léger retard de croissance des véligères par rapport au témoin se manifeste dans le premier cas et non dans le second ; les tests subléthaux (étude de la croissance larvaire) montrent cependant la persistance de nuisances à la basse mer. Néanmoins, la qualité biologique de l'eau de la baie dans son ensemble s'est donc vraisemblablement améliorée, puisque les ports de plaisance constituent la source majeure de contamination par les organostanniques.

D'autre part, les eaux douces qui se déversent dans la baie ne modifient que peu la qualité biologique de cette dernière, y compris dans les sites à mortalité estivale d'huîtres de un an ; en effet, elles ne contiennent pas dans l'ensemble d'élément toxique ayant fortement perturbé la formation ou la croissance des larves D. Cependant, des anomalies importantes (mortalités) ont été notées en un site, l'estuaire de l'Eyre. Bien que ces nuisances apparaissent localisées, elles pourraient constituer un danger potentiel si elles venaient à se développer.

## Conclusion.

Les perturbations du milieu naturel sont généralement d'origines multiples. La suppression des peintures antisalissure à base d'organostanniques a coïncidé avec une reprise du bon déroulement de la reproduction de *C. gigas* dans le bassin d'Arcachon. Au même moment, l'utilisation du sulfate de cuivre par les ostréiculteurs a été interrompue. La destruction des épibiontes des huîtres avait amené le déversement dans la baie d'importantes quantités de ce sel métallique, qui était passé de quelques centaines de kilogrammes par an à 5 tonnes en 1981. Or, ce produit est toxique pour les embryons et les larves de *C. gigas* à des teneurs aussi basses que  $25 \mu\text{g.l}^{-1}$  d'ion cuivrique (HIS et ROBERT, 1982). Il est donc certain qu'interdiction des peintures et arrêt de l'utilisation des sels cuivriques, qui ont coïncidé avec un retour à la normale en ce qui concerne la reproduction des huîtres creuses, n'ont pu avoir qu'une incidence favorable sur la qualité biologique de l'eau de la baie. Cette qualité ne semble pas actuellement menacée par les rapports d'eau douce de l'arrière-pays.

L'exemple arcachonnais confirme le rôle d'organisme sentinelle attribué aux larves de *C. gigas* par WOELKE. Cependant, les nuisances peuvent ne pas s'exercer directement sur cet organisme-test, mais intervenir au niveau du premier maillon de la chaîne alimentaire, le nanoplancton, dont se nourrissent principalement les véligères. Toute anomalie de la reproduction des huîtres creuses constitue une alerte et doit induire les recherches nécessaires à l'explication du phénomène et, s'il y a lieu, la prise de mesures tendant à rendre au milieu naturel son intégrité.

## BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1982 a. — Recherches de produits phytosanitaires dans le bassin d'Arcachon. — Rapp. D.D.A.S.S. Gironde : 100 p. + annexes.
- BERG (C.J.), 1971. — Review of possible causes of mortality of oyster larvae of the genus *Crassostrea* in Tomales Bay, California. — *Fish and Game*, **57** (1) : 69-75.
- CALLAME B., 1976. — Le problème des salissures marines. In *Océanographie, biologie appliquée*. — P. Bougis et Coll. Masson édit., Paris : 301-312.
- DROOP (M.R.), 1969. — Algae. In : *Methods in microbiology*, 3 B2 269-313. — Edit. par J.R. Norris et Ribbons D.W., Acad. Press. New York.
- HELM (M.M.), LAING (I.) et JONES (E.), 1979. — The development of a 200 l. algal culture vessel at CONWAY. — *Fish. Res. Tech. Rep.*, Lowestoft, **53** : 1-7.
- HIS et ROBERT (R.), 1981. — Le danger des traitements par le sulfate de cuivre en zone conchylicole : toxicité vis-à-vis des œufs et des jeunes larves de *Crassostrea gigas*. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **45** (2) : 117-125.
- HIS (E.) et ROBERT (R.), 1983 (1985). — Développement des véligères de *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon. Etudes sur les mortalités larvaires. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **47** (1 et 2) : 63-88.
- HIS (E.), MAURER (D.) et ROBERT (R.), 1983. — Estimation de la teneur en acétate de tributylétain dans l'eau de mer, par une méthode biologique. — *Journal of Molluscan Studies Supplement*, **12a** : 60-68.
- HOLLISTER (T.A.) et WALSH (G.E.), 1973. — Differential responses of marine phytoplankton to herbicides : oxygen evolution. — *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **9** : 291-295.
- LAING (I.), 1979. — Recommended procedures for the culture of *Chaetoceros calcitrans*. — *Fish. Res. Tech. Rep.*, **53** : 8-12.
- LOOSANOFF (V.L.), 1950. — Variations in long Island oyster set. — *All fisheries*, **30** : 15-16.
- MCLACHLAN (J.), 1973. — Growth media-marine. In : *Handbook of phycological methods*, 25-51. — Ed. J.R. Stein. Cambridge Univ. Press. London.
- MARTIN (J.-M.), MEYBECK (M.), SALVADORI (F.), THOMAS (A.), 1979. — Pollution chimique des estuaires : état actuel des connaissances (juin 1974). — *Rapp. Scient. Techn. CNEXO*, n° 22 : 284 p.
- MAURER (D.) et COMPS (M.), 1984. — Mortalités estivales de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin d'Arcachon : facteurs du milieu, aspects biochimiques et histologiques. — Premier Colloque international de Pathologie en Aquaculture marine. 11-14 sept. 1984, Montpellier : 45-46.
- MICHEL (P.) et ABARNOU (A.), 1983. — Pollution marine par les composés organiques de synthèse. — *Académie nationale de Médecine, Paris*, **5** (167) : 35-42.
- ROBERT (R.), HIS (E.) et MAURER (D.), 1981 (1982). — L'unité d'écophysiologie et de molysmologie larvaire des bivalves d'intérêt commercial du laboratoire I.S.T.P.M. d'Arcachon. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **45** (3) : 197-209.
- SMITH (B.S.), 1981. — Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus* ; *Ilyanassa obsoleta*. — *J. Appl. Toxicol.*, **1** (3) : 141-144.
- STEBBING (A.R.D.), AKESSON (B.), CALABRESE (A.), GENTILE (J.H.), JENSEN (A.) et LLOYD (R.), 1980. — The role of bioassays in marine pollution. Bioassay panel report. — *Rapp. P.V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer*, **179** : 322-332.
- WALNE (P.R.), 1966. — Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. — *Fishery Invest.*, Londres, **25** : 1-53.
- WOELKE (C.E.), 1967. — Measurement of water quality with the Pacific oyster embryo bioassay. — *Water Quality Criteria, Am. Soc. Testing Mats*, **416** : 112-120.