

**INFLUENCE DES PEINTURES ANTISALISSURES  
A BASE D'ORGANOSTANNIQUES  
SUR LA CALCIFICATION DE LA COQUILLE  
DE L'HUITRE *CRASSOSTREA GIGAS***

par Claude ALZIEU, Maurice HÉRAL, Yves THIBAUD,  
Marie-Josée DARDIGNAC et Michèle FEUILLET<sup>(1)</sup>

*Résumé*

Les observations pratiquées dans les zones conchylicoles où l'huître creuse *Crassostrea gigas* est affectée par des anomalies de calcification montrent une étroite corrélation entre l'importance des malformations de la coquille et la proximité de zones portuaires où séjournent un grand nombre de bateaux. Les dérivés organostanniques contenus dans les peintures antisalissures, et plus précisément le fluorure de tributylétain (TBTF), provoquent expérimentalement des anomalies identiques à celles observées dans le milieu naturel. Les teneurs en étain total dans les tissus des huîtres vivant à proximité des sources d'apport en organostanniques peuvent atteindre des valeurs élevées, mais qui semblent décroître rapidement quand la contamination du milieu diminue. Les auteurs émettent l'hypothèse que les effets des organostanniques sur les mécanismes de calcification des huîtres pourraient être dus à leurs propriétés complexantes vis-à-vis des acides aminés constitutifs de la matrice protéique de la coquille et inhibitrices de la phosphorylation oxydative.

*Abstract*

Experiments in oyster-breeding areas where oyster *Crassostrea gigas* suffers from anomalies of calcification, show an obvious correlation between the importance of the malformation of shells and the vicinity of port areas where a great number of boats usually stay. Organotin compounds contained in antifouling paints, and more precisely Tributyltin fluoride (TBTF) induce, in experimental environment, similar anomalies to those observed in natural environment. The amounts of total tin in the tissues of oysters living in the vicinity of spots where organotin products are brought in, can reach high values, though they appear to decrease rapidly whereas the environmental contamination lessens. The authors suggest that results of organotins upon the mechanisms of oyster calcification might be due to their particular properties: complexing amino-acids that constitute the proteic matrix of shells and inhibiting oxydative phosphorylation.

---

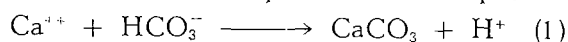
(1) Les auteurs tiennent à remercier Dominique AUGER, Françoise GUERGUIN, Francine JADAS-HEGART et Daniel RAZET pour leur contribution.

L'huître du Pacifique *Crassostrea gigas*, introduite en France à la suite des épizooties qui ont décimé le cheptel de *Crassostrea angulata*, est actuellement affectée par des perturbations des mécanismes de calcification qui se traduisent par une structure lamellaire de la coquille renfermant une substance gélatineuse. Dans les cas extrêmes ces anomalies donnent des huîtres qui poussent en épaisseur plutôt qu'en longueur, et prennent une forme caractéristique dite « en boulet ». L'apparition et le développement du phénomène auquel on a donné le nom de « gaufrage » ont été décrits par HÉRAL *et al.* (1981), et sa relation avec les dérivés organostanniques contenus dans les peintures antisalissures a été signalée dans une précédente publication, ALZIEU *et al.* (1980).

Nous présentons maintenant les résultats détaillés des expérimentations conduites *in situ* et en laboratoire qui nous ont permis de démontrer que les organostanniques, diffusés dans le milieu marin à partir des peintures antisalissures, peuvent être une des causes provoquant les anomalies de calcification de l'huître *C. gigas*.

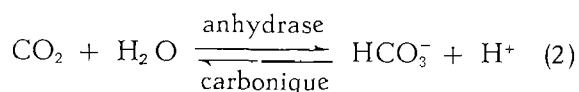
### 1. Mécanismes de calcification.

La composition de l'exosquelette des invertébrés diffère suivant les espèces, mais fait toujours apparaître une fraction minérale incluse dans une matrice organique. La partie minérale des coquilles de bivalves marins est essentiellement constituée par des sels de calcium (carbonates et phosphates) et de magnésium (carbonates). Pour l'huître *C. gigas* cultivée sur la côte atlantique, le taux de calcium par rapport au poids total de la coquille sèche varie entre 10 et 35 %, alors que pour le magnésium il est beaucoup plus faible et reste voisin de 0,15 % (THIBAUD, non publié). La matrice organique qui représente 1 à 2 % du poids de la coquille est constituée par des protéines et glycoprotéines pouvant être séparées suivant leur solubilité en milieu aqueux. La fraction soluble, qui contient divers acides aminés tels que glycine, sérine, alanine, acides glutamique et aspartique, assure la fixation des ions calcium. Secrétée par le manteau, elle contribue à la formation des noyaux cristallins, contrôle leur orientation et est à l'origine de la cohésion des différentes couches cristallines. La calcification est liée à un ensemble de phénomènes intracellulaires localisés au niveau des cellules épithéliales du manteau qui sécrètent l'enveloppe protéique externe de la coquille (péριοstracum), la matrice organique et laissent passer les ions calcium, carbonates et bicarbonates provenant du métabolisme cellulaire vers le liquide extrapalléal, situé entre le manteau et la face interne de la coquille. Le carbonate de calcium, formé dans le liquide extrapalléal selon la réaction 1, cristallise lorsqu'il se trouve à saturation et se dépose sur le substrat protéique ou sur la couche cristalline précédemment déposée :



Deux enzymes participent aux mécanismes réactionnels de la calcification :

l'anhydrase carbonique catalyse la transformation du gaz carbonique en bicarbonate selon la réaction d'équilibre 2, qui influe sur la vitesse de cristallisation,



la phosphatase alcaline augmente l'alcalinité du liquide extrapalléal et par là favorise la cristallisation du carbonate de calcium ; de plus elle participe à la synthèse de la matrice protéique et élimine les éléments qui peuvent constituer des « poissons cristallins ».

Les processus biochimiques complexes de la calcification peuvent être perturbés ou bloqués par des substances inhibitrices de la glycolyse, de la phosphorylation oxydative ou de l'activité de l'anhydrase carbonique. La « qualité de la coquille » formée dépend du bon fonctionnement de ces processus dont l'altération peut, soit entraîner une minéralisation insuffisante due à une cristallisation du carbonate de calcium défailante, soit affecter la cohésion des couches cristallines par dénaturation de la matrice organique. Les travaux de KRAMPITZ (1980-1981) tendent à montrer que les anomalies de calcification des coquilles de *C. gigas* seraient plutôt liées à une altération de la matrice organique : le gel interlamellaire de nature protéique étant très pauvre en acides aminés capables de fixer le calcium.

## 2. Relations entre les zones portuaires et les anomalies de calcification.

Dans les bassins conchylicoles de l'Atlantique les anomalies de calcification se répartissent de façon différente. A Arcachon, elles affectent l'ensemble des parcs, quelle que soit la position géographique par rapport aux « passes » qui constituent la seule zone d'échange entre les eaux continentales et océaniques, mais le phénomène est très accentué à proximité du port d'Arcachon (DELTREIL, com. pers.). A Marennes-Oléron, les anomalies prennent un caractère aigu dans les chenaux de la Seudre et dans le secteur de Boyardville, alors que les huîtres élevées en claires ostréicoles ne sont pas atteintes. Dans la région située autour de La Rochelle, et particulièrement au sud de la zone urbaine et industrialo-portuaire, toutes les huîtres poussent en forme de « boulet ».

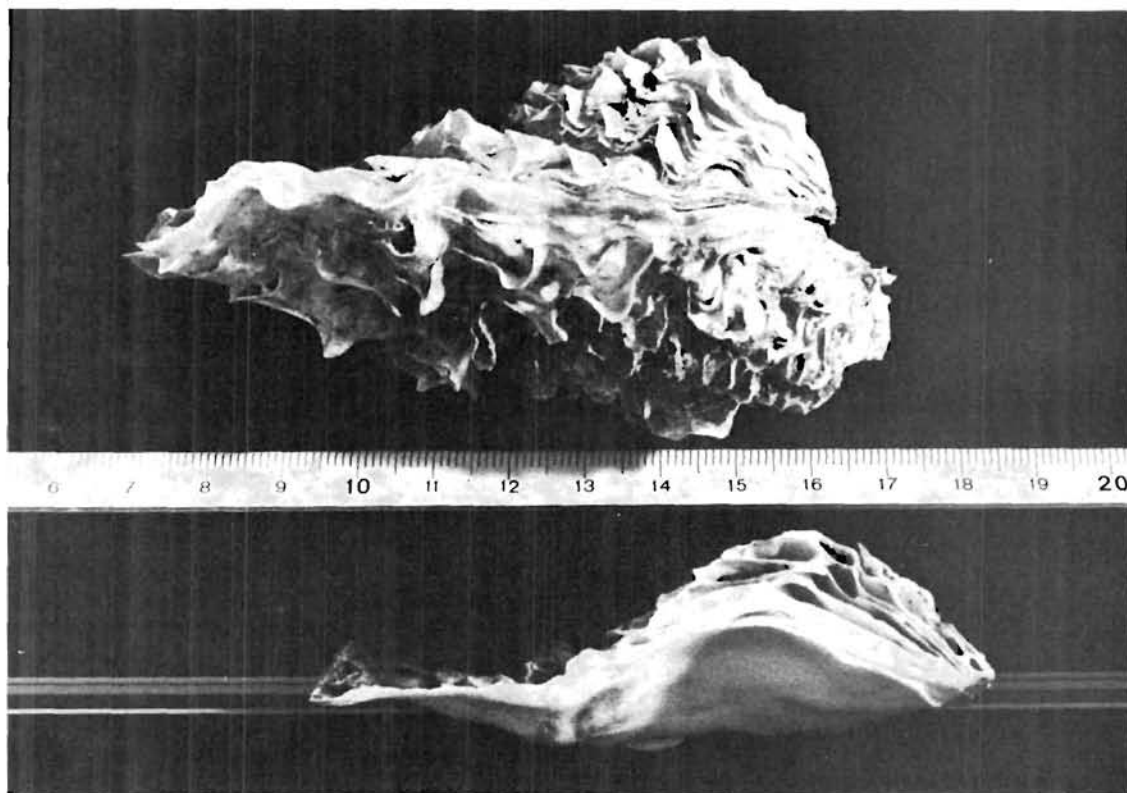


FIG. 1. — Coquille d'huître élevée d'abord sur les parcs du platin d'Aytré (partie droite), puis en baie de Bourgneuf (partie gauche) ; la coupe de la valve supérieure (en bas) fait nettement apparaître les chambres gélatineuses (partie droite) et la coquille normale (partie gauche).

Ces malformations sont observées uniquement chez l'huître creuse *C. gigas* ; les huîtres plates *Ostrea edulis* qui vivent dans les mêmes secteurs poussent normalement. La calcification peut redevenir normale lorsque des huîtres malformées sont, soit transférées dans des centres d'élevage où les anomalies ne sont pas observées, soit placées dans les claires ostréicoles du bassin de Marennes-Oléron. Le caractère réversible du phénomène est illustré par la figure 1 qui montre l'évolution de la coquille d'une huître ayant vécu environ 18 mois sur les parcs du platin d'Aytré, au sud de La Rochelle, avant d'être transférée en baie de Bourgneuf (sud Loire). La coquille qui à Aytré présente un épaissement exagéré avec de nombreuses chambres superposées, visibles sur la coupe de la valve supérieure (partie droite), retrouve en baie de Bourgneuf un aspect normal (partie gauche) avec croissance en longueur des valves supérieures et inférieures. Ces observations démontrent que l'apparition des anomalies de calcification est étroitement liée à la qualité du milieu dans lequel vivent les huîtres.

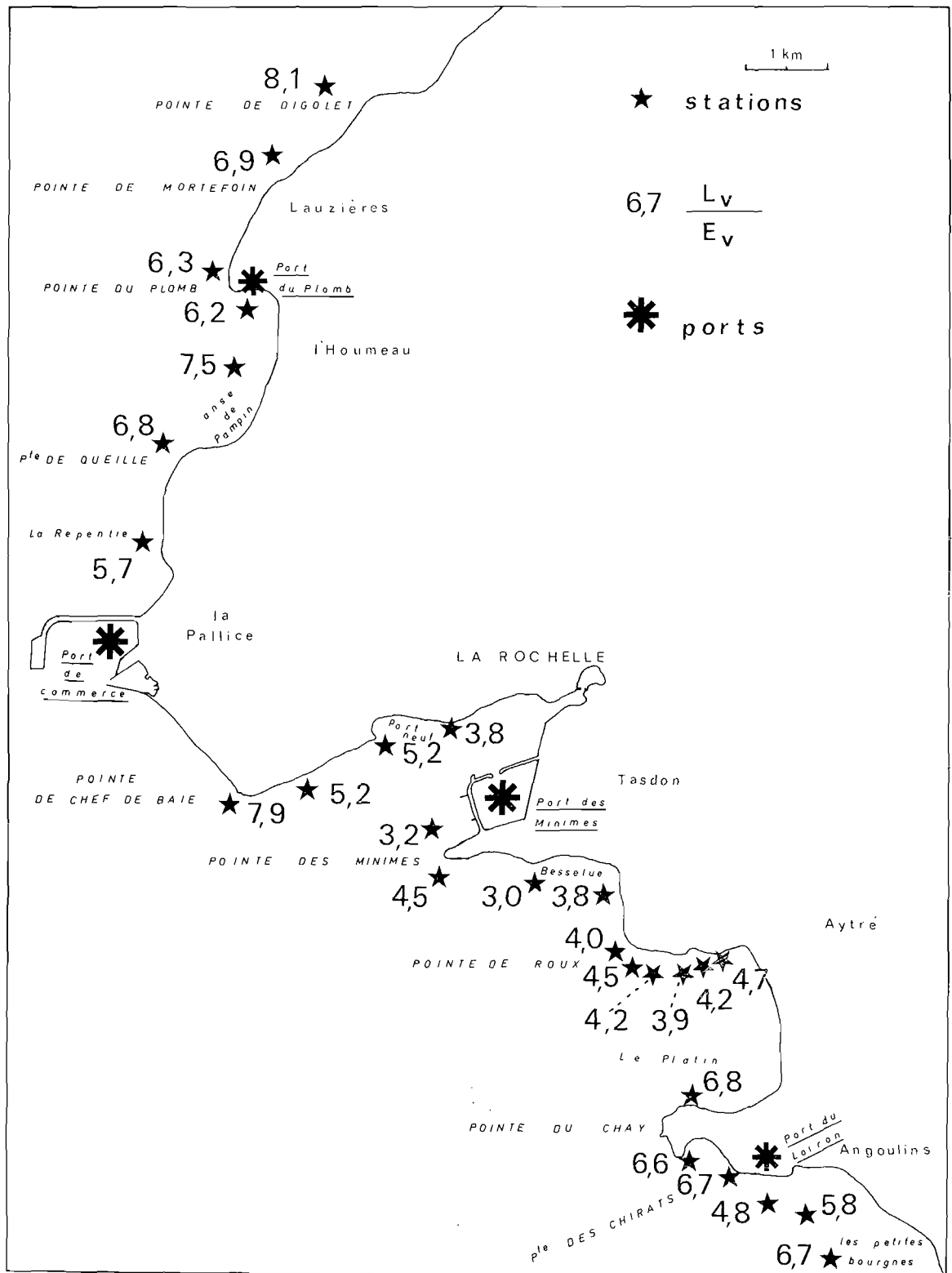


FIG. 2. — Répartition des malformations des coquilles de *C. gigas* en fonction du rapport  $L_v/E_v$  dans la zone littorale de La Rochelle.

Les activités nautiques peuvent contribuer à l'altération du milieu et de nombreux observateurs ont souligné la corrélation existant entre les secteurs où les anomalies de calcification sont les plus marquées et la fréquentation des navires de plaisance :

16 000 bateaux naviguent en juillet-août sur les 1 550 ha du bassin d'Arcachon ;

les chenaux de la Seudre et les ports de plaisance de l'île d'Oléron abritent à l'hivernage respectivement 50 et 300 bateaux, et en permanence quelques milliers d'embarcations d'ostréiculteurs ;

le plus grand port de plaisance d'Europe se trouve à La Rochelle ; 16 600 bateaux ont fait relâche au cours de l'été 1981 au Port des Minimes dont les 2 700 emplacements abritent 2 200 unités en période hivernale.

Nous avons tenté de vérifier cette hypothèse, en étudiant les malformations des huîtres élevées sur parc à proximité des ports de plaisance, dans deux secteurs conchylicoles importants : la zone littorale située au nord et au sud de La Rochelle et le bassin de Marennes-Oléron. L'importance des anomalies a été appréciée en déterminant le rapport entre la longueur de la valve supérieure ( $L_v$ ) et son épaisseur ( $E_v$ ). Ce rapport  $\frac{L_v}{E_v}$  est d'autant plus faible que les huîtres poussent en épaisseur et prennent la forme d'un « boulet »  $\frac{L_v}{E_v} < 5$ .

#### Zone littorale de La Rochelle.

Les élevages conchylicoles sont répartis au nord et au sud de l'agglomération urbaine, industrielle et portuaire de La Rochelle où sont situés les 15 postes à quai du port de commerce de La Pallice, qui ont accueilli 889 navires en 1981, et les 2 700 emplacements du port de plaisance des Minimes. Ces deux ports, ainsi que les 70 bateaux du port de plaisance du Plomb et la soixantaine de mouillages estivaux du port du Loiron (fig. 2), représentent les plus importantes sources d'apports en dérivés organostanniques ayant pour origine les peintures antisalissures.

Le rapport entre longueur et épaisseur de la valve supérieure  $\frac{L_v}{E_v}$  a été déterminé sur 27 prélèvements de 50 huîtres répartis entre la pointe de Digolet au nord et Les Petites-Bourgnes (Angoulins) au sud. Les valeurs moyennes reportées sur la figure 2 montrent que la zone où le gaufrage est important, c'est-à-dire celle où le rapport est inférieur à 5, s'étend depuis la pointe des Minimes jusqu'au Platin d'Aytré sur une distance d'environ 4 km. Dans cette zone la croissance en épaisseur de la coquille est particulièrement marquée aux environs du port des Minimes : la valeur de  $\frac{L_v}{E_v}$  est voisine de 3 et les huîtres ont une forme en « boulet », comme le montre la figure 3. Sur la rive nord de la baie de La Rochelle, face au port des Minimes, la zone de gaufrage est moins étendue (1 km) probablement en raison des courants de marée qui entraînent les eaux de jusant vers la côte sud.

La morphologie de la coquille s'améliore au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la pointe des Minimes, mais des perturbations apparaissent entre la pointe de Chef de Baie et la pointe de Queille dans le secteur du port de commerce, à la pointe du Plomb face au port de plaisance, et au sud de la pointe du Chay à proximité des mouillages de Loiron. Ainsi, à 7 km au sud des Minimes et 12 km au nord, la croissance est encore sérieusement perturbée : le rapport  $\frac{L_v}{E_v}$  est inférieur à 8, alors que dans les secteurs de pousse normale comme Fouras (16 km au sud de la pointe des Minimes) il varie entre 14 et 18.

#### Bassin de Marennes-Oléron.

Les parcs implantés dans le bassin de Marennes-Oléron au sud de la pointe de Boyardville se trouvent dans une zone à caractère océanique, riche en éléments phytoplanctoniques indispensables à la nutrition des huîtres, à l'écart des apports telluriques de la Charente et de la Seudre,

mais sous l'influence des eaux évacuées par le chenal de la Perrotine. La croissance des huîtres y est perturbée depuis la construction à Boyardville d'un port de plaisance de 180 postes d'amarrages qui est alimenté en eau par le chenal de la Perrotine.

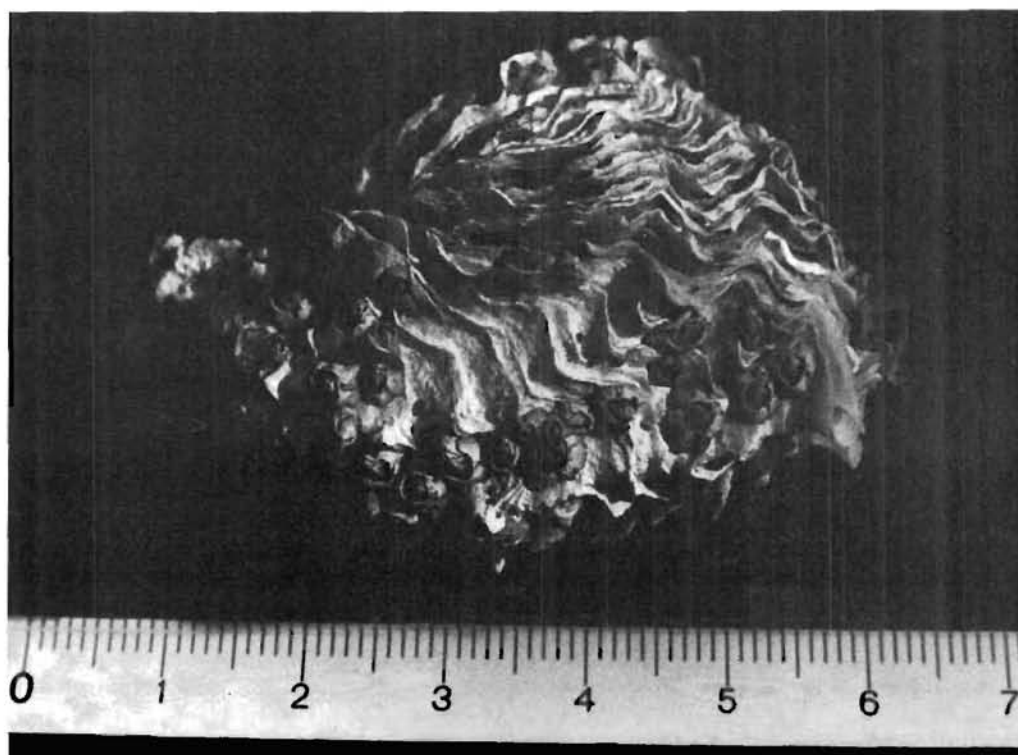


Fig. 3. — Aspect en forme de boulet des huîtres vivant dans la zone de gaufrage maximum de la pointe des Minimes (La Rochelle).

Sur ces parcs, 11 lots de 50 huîtres âgées de 1 à 2 ans ont été prélevés au mois de novembre 1981, en neuf stations situées sur une radiale dirigée nord-sud à partir de la pointe de Boyardville.

Les valeurs moyennes de  $\frac{L_v}{E_v}$  reportées sur la figure 4 varient entre 4 et 11 pour l'ensemble des lots examinés et augmentent au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la pointe de Boyardville. Elles permettent de déterminer trois zones :

zone de gaufrage important s'étendant jusqu'à 1 km au sud du chenal (stations I à IV) où le rapport  $\frac{L_v}{E_v}$  varie entre 4 et 5 ;

zone intermédiaire formant une bande située entre 1 km et 1,5 km du chenal (stations V à VII) où le rapport est compris entre 6 et 8 ;

zone subnormale où les rapports sont supérieurs à 9, située à environ 2 km de la pointe de Boyardville.

La figure 5 montre les tailles et aspects type des huîtres prélevées dans chacune de ces trois zones. On remarquera la similitude de forme entre les huîtres de la station II et celles du Platin d'Aytré (fig. 3).

Nous avons également cherché à savoir s'il existait une corrélation entre l'importance des anomalies et la contamination métallique des mollusques. Les teneurs en cuivre, zinc et étain déterminées dans la chair des huîtres prélevées dans les différents lots examinés et rassemblées dans le tableau 1, ne mettent pas en évidence de gradient de concentration suivant l'éloignement

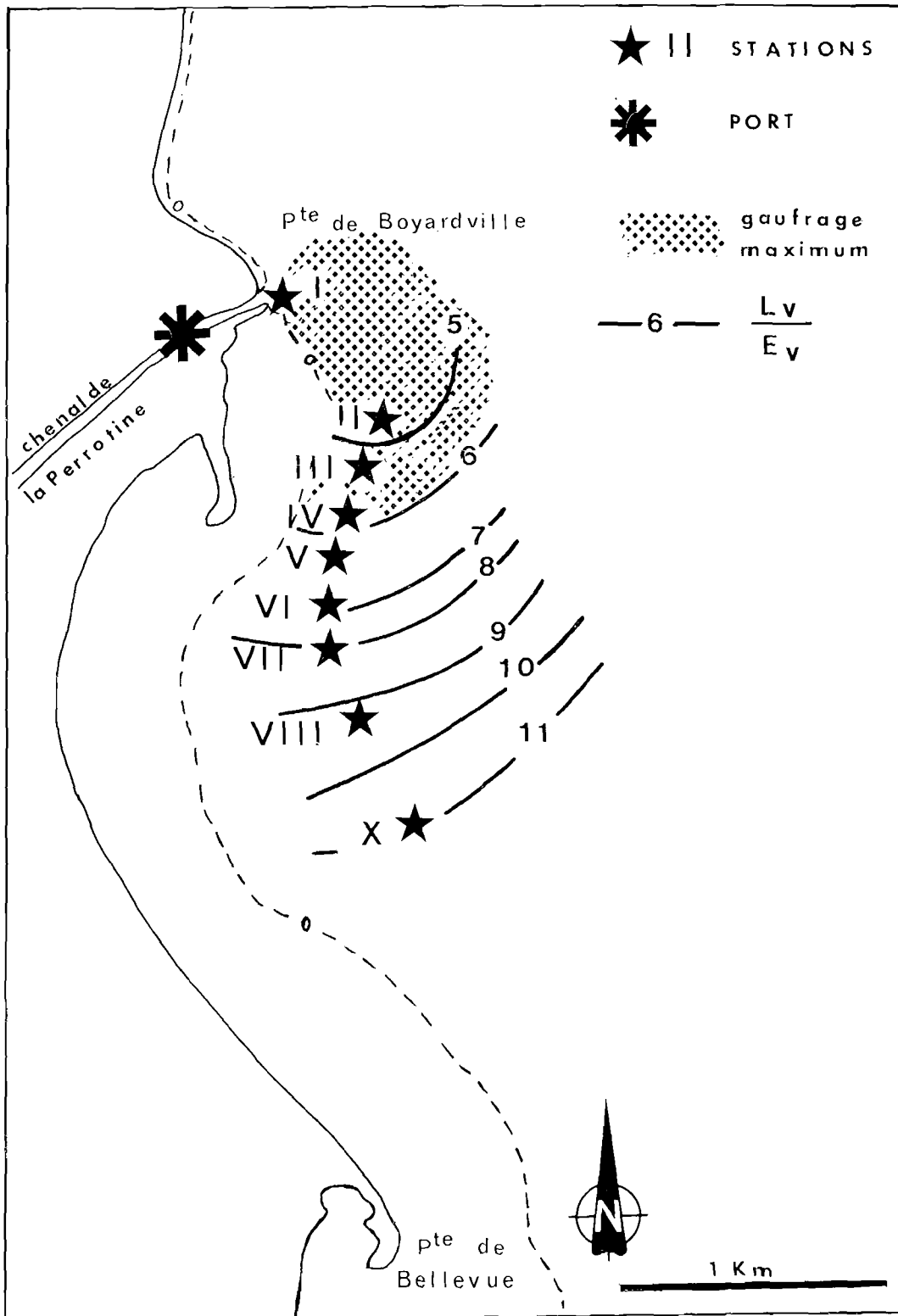


FIG. 4. — Répartition des malformations des coquilles de *C. gigas* en fonction du rapport entre longueur ( $L_v$ ) et épaisseur ( $E_v$ ) de la valve supérieure, sur les parcs situés au sud de la pointe de Boyardville.

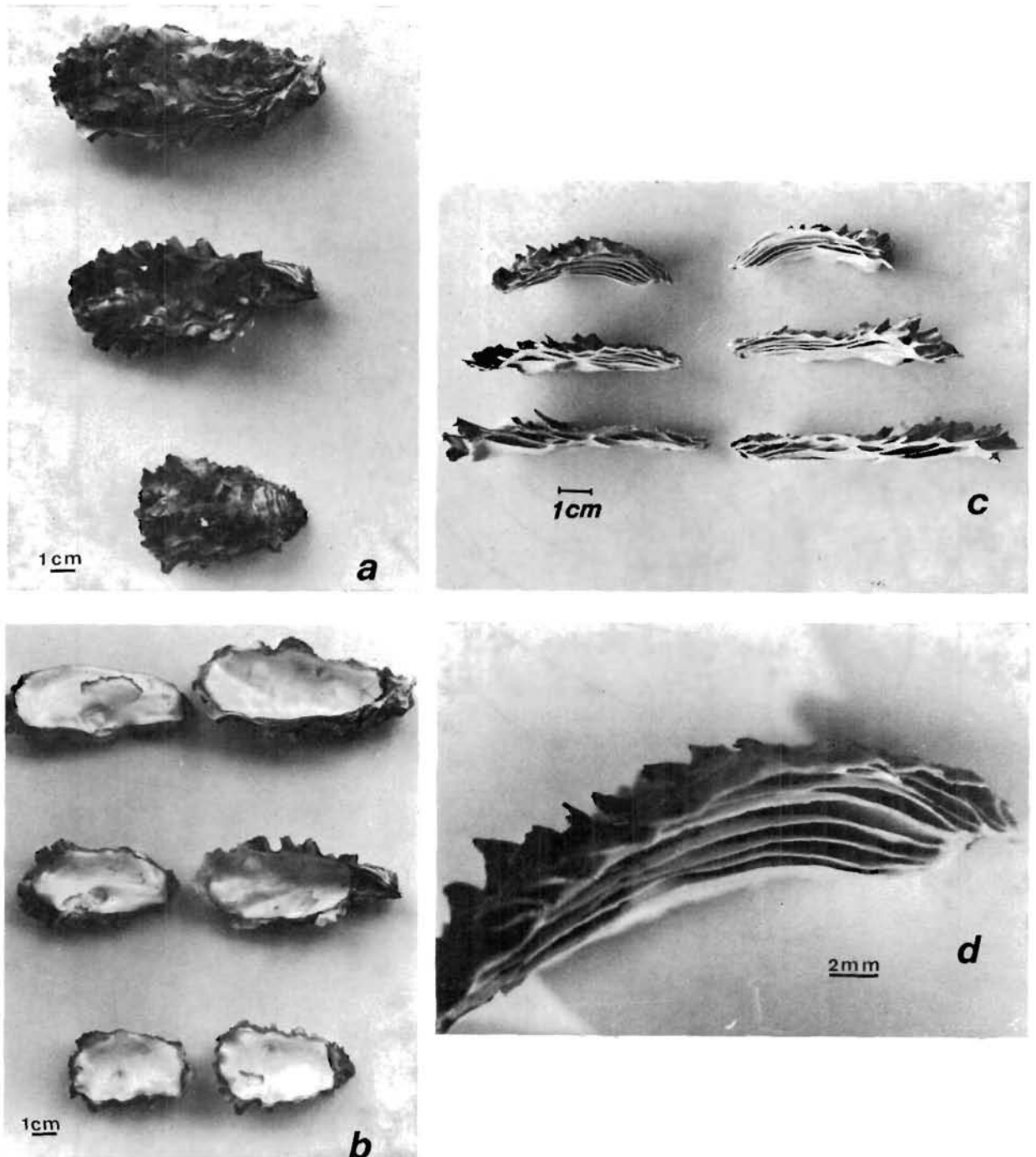


FIG. 5. — Aspect externe (a) et interne (b) des coquilles des huîtres élevées au sud de la pointe de Boyardville : en haut zone subnormale, station IX ; au centre zone intermédiaire, station V ; en bas zone de gaufrage maximum, station II. Les coupes (c) des valves supérieures montrent la différence de chambrage dans les trois zones et un détail (d) de la valve supérieure dans la zone de gaufrage maximum.



de la pointe de Boyardville. La contamination par l'étain est faible : elle varie entre 0,5 et 1,2 mg/kg de poids sec et, en un même point, elle est comparable chez les huîtres âgées de un et de deux ans. Il est vraisemblable que les faibles teneurs en étain rencontrées à cette période de l'année (novembre) sont dues aux faibles apports en organostanniques provenant de la fréquentation hivernale du port de Boyardville. Toutefois, ces résultats semblent montrer, d'une part, que les huîtres possèdent la faculté d'éliminer l'étain qu'elles ont accumulé puisque les teneurs sont faibles et peu différentes suivant l'âge, d'autre part, que l'apparition des anomalies de calcification n'est pas liée à une contamination des huîtres par l'étain. En ce qui concerne le cuivre et le zinc, les concentrations moyennes sont plus élevées chez les huîtres les plus âgées mais demeurent de l'ordre de grandeur de celles considérées comme normales.

Stations	Huîtres de un an			Huîtres de deux ans		
	Cu	Zn	Sn	Cu	Zn	Sn
I	153	1666	0,7	187	2085	0,6
II	214	2173	1,0	248	2662	0,6
III	154	1838	1,1	188	2054	1,2
IV	148	1705	1,0	187	2129	1,0
VI	119	1382	1,1	195	2393	1,2
VIII	115	1588	0,6	241	3583	0,5
Moyenne	150,5	1725	0,9	207,7	2484	0,85
Ecart type	35,5	266	0,2	28,8	586	0,3

TABLE. 1. — Teneurs en cuivre, zinc et étain exprimées en mg/kg de poids sec dans la chair des huîtres vivant à proximité du port de Boyardville.

Les résultats des mensurations effectuées sur des coquilles d'huîtres vivant sur les parcs du bassin de Marennes-Oléron ainsi que le long du littoral de la Charente-Maritime dans la région de La Rochelle confirment l'hypothèse selon laquelle l'importance des anomalies de calcification est en relation avec la proximité de zones où existent des activités nautiques de plaisance ou de commerce.

### 3. Mise en évidence du rôle des organostanniques.

Afin de savoir si les organostanniques introduits dans le milieu marin par la lixiviation des peintures antisalissures peuvent être à l'origine des anomalies de calcification, nous avons tenté d'induire le phénomène chez des huîtres non affectées en les plaçant à proximité de sources d'apport en organostanniques, tant dans le milieu naturel qu'en laboratoire.

#### Dispositif expérimental.

Les expérimentations ont porté sur des huîtres captées en Seudre en 1978 et que nous avons placées en élevage sur le banc de Dagnas. Le suivi de leur croissance avait mis en évidence de fugaces apparitions de poches gélatineuses en 1979 et 1980 au cours du mois de juillet. En juin 1981 au moment de leur utilisation pour les besoins expérimentaux, les coquilles étaient normalement calcifiées et ne présentaient ni poches gélatineuses, ni anomalies de croissance en épaisseur. Huit lots d'huîtres de taille homogène comportant 50 individus ont été répartis suivant le dispositif indiqué sur la figure 6 :

deux lots suspendus et immergés à un mètre de profondeur sous les pontons du port de Boyardville où séjournent en période estivale environ 200 bateaux ;

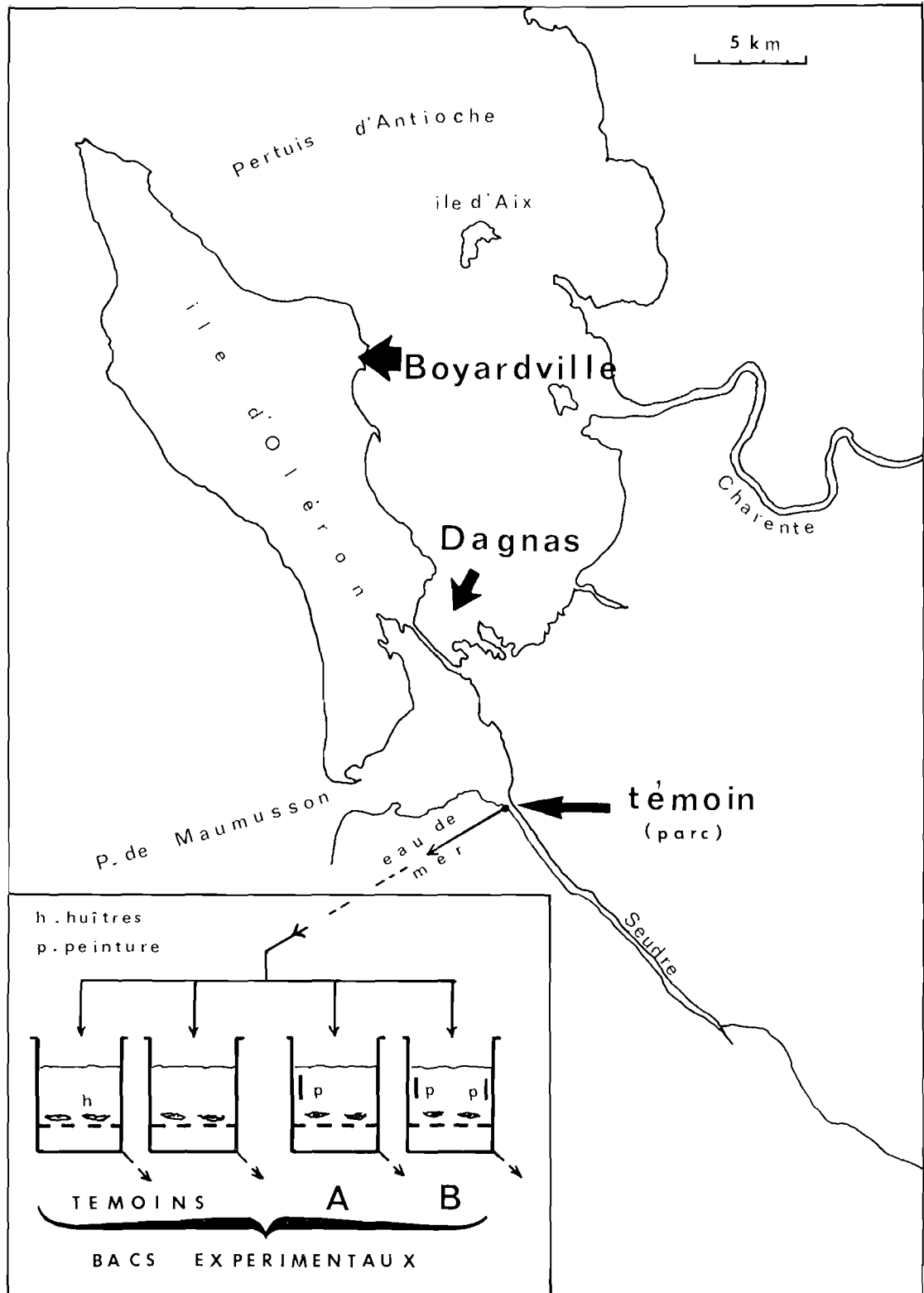


FIG. 6. — Dispositif expérimental in situ et en laboratoire.

quatre lots introduits dans quatre bacs expérimentaux de 150 litres de capacité alimentés par les eaux de la Seudre ; deux bacs étant utilisés comme témoin, les deux autres recevant des apports en fluorure de tributylétain sous la forme de plaques enduites, à raison de 8 mg/cm<sup>2</sup>, d'une peinture à base de TBTF de surface 50 cm<sup>2</sup> pour un bac (A) et 500 cm<sup>2</sup> pour l'autre (B) ; la quantité de TBTF contenu dans le film déposé a été estimée respectivement à 60 et 600 mg ;

deux lots témoins en milieu naturel, disposés dans des casiers sur des tables ostréicoles placées en Seudre face à la prise d'eau alimentant les bacs expérimentaux, et sur le banc de Dagnas.

Les peintures antisalissures agissant par libération d'une quantité de matière proportionnelle à la surface peinte, les apports en organostanniques dans les bacs expérimentaux peuvent être comparés à ceux du port de plaisance de Boyardville en rapportant les superficies de peinture aux volumes d'eau transitant pendant une marée. L'eau alimentant les bacs expérimentaux est pompée à marée haute et une réserve, assurant un régime hydraulique identique à celui des parcs d'élevage de la Seudre, permet de faire circuler selon le coefficient de marée, entre 0,5 et 1 m<sup>3</sup> d'eau dans chaque bac. Le volume d'eau par unité de surface de peinture est donc de l'ordre de 0,01 à 0,02 m<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> pour le bac A (50 cm<sup>2</sup> de peinture) et de 0,001 à 0,002 m<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup> pour le bac B. Le volume d'eau dans le port de Boyardville peut être estimé à 32 500 m<sup>3</sup> (superficie 1,3 ha ; profondeur moyenne 2,5 m) subissant une dilution de 30 % environ lors de l'ouverture des écluses deux heures avant la pleine mer. Les 200 bateaux qui y séjournent en été représentent une surface de carènes de l'ordre de 2 000 m<sup>2</sup> et de ce fait le rapport entre la surface de peinture et le volume d'eau présent pendant une marée (32 500 × 1,3 = 42 250 m<sup>3</sup>) est de l'ordre de 0,002 m<sup>3</sup>/cm<sup>2</sup>. Ceci montre que, du point de vue des apports en organostanniques, les huitres placées dans le bac le plus chargé en peinture (B) se trouvent dans des conditions comparables à celles implantées dans le port de Boyardville.

#### Résultats.

Des examens macroscopiques, hebdomadaires, effectués sur les différents lots d'huitres mis en expérience le 6 juin 1981 et visant à déceler l'éventuelle apparition des malformations et déterminer les taux de mortalité, ont été complétés par des prélèvements destinés à l'analyse des métaux dans la chair des mollusques.

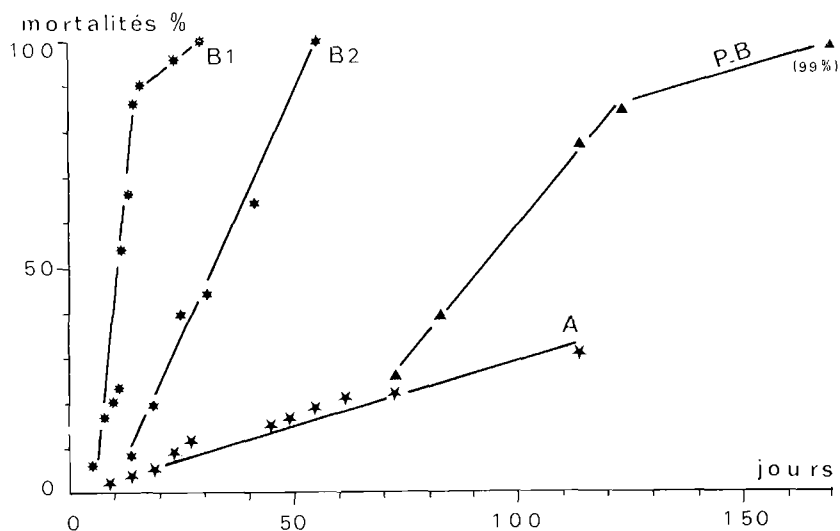


FIG. 7. — Taux de mortalité cumulés dans le bac A (A), le bac B en juin (B<sub>1</sub>) et en juillet (B<sub>2</sub>) et dans le port de Boyardville (P.B).

Les taux de mortalité reportés sur la figure 7 mettent en évidence des effets toxiques marqués tant sur les huitres placées dans les bacs A et B que sur celles implantées dans le

port de Boyardville. Pendant la même période aucune mortalité n'est constatée ni dans les bacs ni sur les parcs ostréicoles pris comme témoins. Les effets toxiques les plus importants se sont manifestés dans le bac B où nous avons dû introduire début juillet un nouveau lot d'huîtres. Les courbes B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> correspondant respectivement aux lots mis en expérimentation en juin et juillet montrent que les premières mortalités apparaissent dès le dixième jour et que la totalité des individus est décimée au bout de 30 à 50 jours. Les conditions expérimentales différentes en juin et juillet, volume d'eau introduit dans les bacs, vieillissement du film antisalissure, expliquent l'allure différente des courbes B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>. Dans le bac A (50 cm<sup>2</sup> de peinture), le taux de mortalité est resté faible tout en augmentant régulièrement pour atteindre 30 % après 110 jours d'expérimentation. Dans le port de Boyardville la mortalité augmente très rapidement à partir du 15 août, c'est-à-dire après 70 jours d'immersion, et 80 % des huîtres sont détruites fin septembre.

*Les teneurs en étain total* dans les chairs ont été déterminées en utilisant la technique décrite par THIBAUD (1980). Elles sont reportées sur la figure 8 a pour les huîtres mises en expérimentation dans le bac A et le port de Boyardville ; les mortalités élevées obtenues dans le bac B ne nous ont pas permis de disposer d'un échantillonnage suffisant, et dans les lots témoins les valeurs ont toujours été inférieures au seuil de détection, c'est-à-dire 1 mg/kg de chair lyophilisée. Dans le port de Boyardville les teneurs en étain sont très élevées et atteignent un maximum de 110 mg/kg fin août en relation avec la fréquentation estivale du port. Elles diminuent par la suite mais demeurent supérieures à 60 mg/kg au cours du mois d'octobre. Dans le bac A la contamination augmente au cours du mois de juin, demeure voisine de 25 mg/kg en juillet-août, puis régresse à partir de septembre de manière à se situer aux environs de 5 mg/kg à la mi-octobre. Ces données démontrent que les apports en organostanniques dus aux peintures antisalissures provoquent une accumulation d'étain dans la chair des huîtres, et que les quantités accumulées, qui atteignent des niveaux élevés en particulier dans les ports de plaisance, tendent à être éliminées quand la concentration en organostanniques dans le milieu diminue. Elles sont en accord avec les résultats expérimentaux de WARD *et al.* (1981), qui ont trouvé que 52 % du TBTO bioaccumulé par le poisson *Cyprinodon variegatus* était éliminé au bout de 7 jours en milieu non contaminé. Toutefois, il semble que les huîtres accumulent plus facilement les organostanniques, puisque les teneurs rencontrées chez les poissons exposés pendant 58 jours à la concentration de 1,6 µg/l de TBTO étaient de l'ordre de 4 mg/kg, c'est-à-dire très inférieurs à celles des huîtres du bac A et du port de Boyardville. Il est à noter que ces résultats confirment l'hypothèse que nous avons émise pour expliquer l'absence de gradient dans les teneurs en étain total trouvées chez les huîtres vivant sur les parcs situés au sud de la pointe de Boyardville (tabl. 1).

Les analyses des sédiments déposés dans les bacs ont également fait apparaître un enrichissement en étain dans le bac A (26,2 mg/kg de poids sec) et le bac B (57,0 mg/kg) par rapport au témoin (18,9). Par contre les teneurs en étain dans les macrophytes, qui se sont développés seulement dans les bacs témoins et A, sont du même ordre de grandeur, soit respectivement 12,2 et 13,8 mg/kg de poids sec.

*Les teneurs en cuivre et en zinc* reportées sur les figures 8 b et 8 c font apparaître une évolution différente pendant la durée de l'expérimentation entre les témoins et les huîtres placées dans le port de Boyardville et le bac A. Pour les huîtres de Boyardville, les teneurs en cuivre sont constamment inférieures à celles des témoins à partir du 30 juin (24<sup>e</sup> jour d'immersion) et celles en zinc suivent la même évolution que les témoins jusqu'à la mi-septembre. Le dérèglement des huîtres du bac A se traduit par des concentrations tantôt nettement plus élevées, tantôt nettement plus faibles que celles des témoins ; ces perturbations affectent les concentrations en zinc à partir du 30 juin et celles en cuivre à partir du 11 août (66<sup>e</sup> jour d'immersion). Ces résultats tendent à montrer que la présence anormale d'étain, rencontrée dans la chair des huîtres, peut entraîner des perturbations dans les teneurs de deux oligoéléments indispensables à la vie des mollusques : le cuivre constituant métallique du pigment respiratoire qu'est l'hémocyanine, et le zinc constituant métallique de l'anhydrase carbonique qui participe aux processus de calcification.

*Les teneurs en plomb et en cadmium* dans les prélèvements tests ne révèlent pas dans l'ensemble de variation significative avec les témoins comme le montrent les figures 8 d et 8 e.

*L'observation macroscopique des coquilles* (fig. 9) pendant toute la durée de l'expérimentation, c'est-à-dire jusqu'au début du mois de novembre, a montré l'absence d'anomalies de calcification

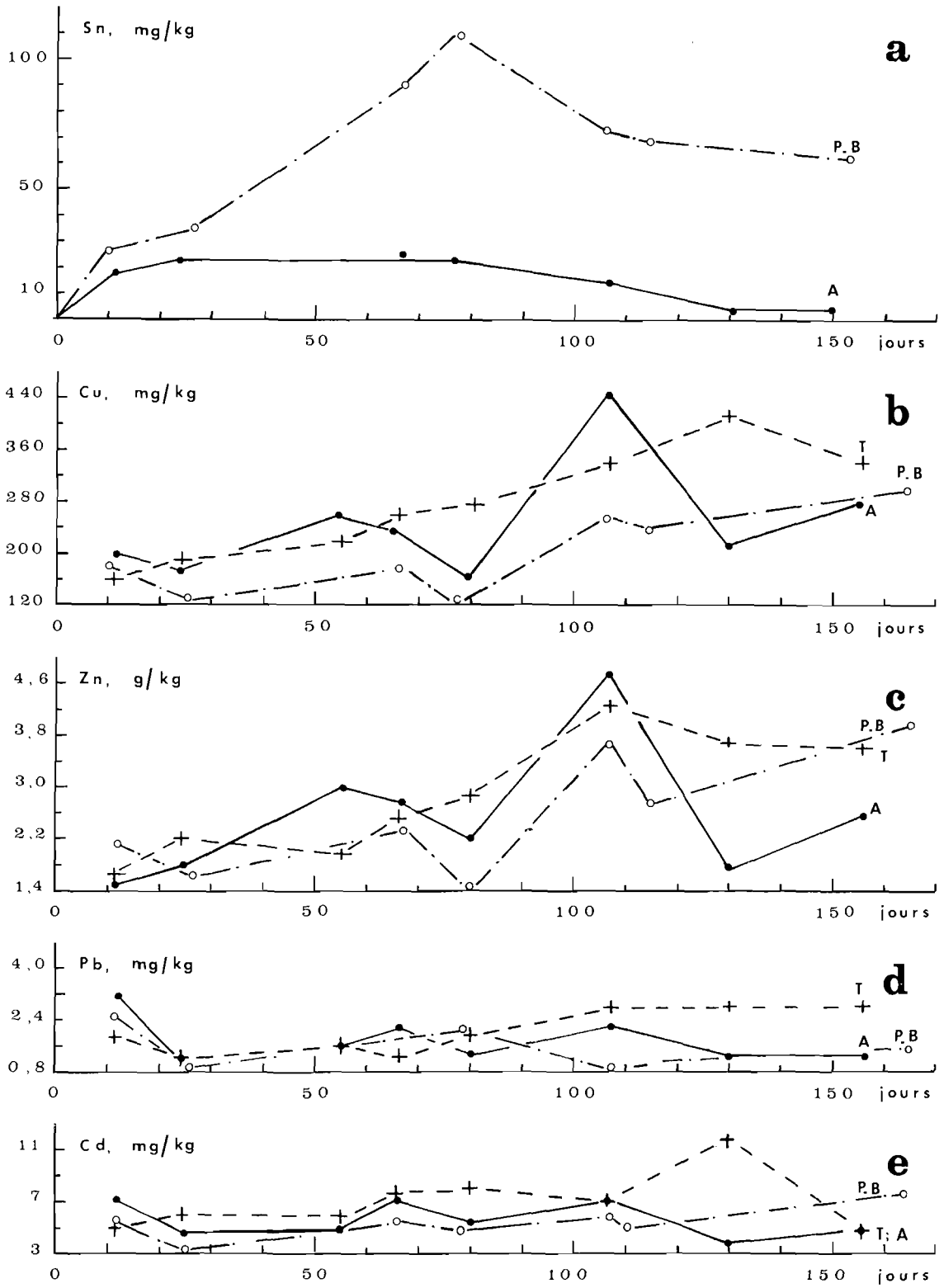


FIG. 8. — Evolution des teneurs en étain (a), cuivre (b), zinc (c), plomb (d) et cadmium (e), exprimées en mg/kg de poids sec dans les huitres témoins (T), du bac A (A) et du port de Boyardville (P.B.).

chez les huîtres des bacs témoins et des parcs de la Seudre avoisinant la prise d'eau d'alimentation des bacs. Par contre des poches gélatineuses se sont développées sur les huîtres des parcs de Dagnas : elles affectaient 5 % des individus en juin, 30 % en juillet et 48 % en août. La calcification active a repris en septembre par dépôt d'une fine couche calcaire, en conformité avec les observations faites en 1979 et 1980 par HÉRAL *et al.* (1981). Les huîtres immergées dans le port de Boyardville et le bac A sont affectées par une hypersécrétion de gel qui survient vers le 15 septembre, soit respectivement après 100 et 110 jours d'expérimentation. Le gel sécrété est rapidement recouvert par une fine pellicule calcaire qui, une fois déposée, est à son tour recouverte de gel entraînant la formation d'une nouvelle pellicule calcaire. Cet enchaînement, entre la sécrétion du gel et son recouvrement par une pellicule calcaire, se poursuit sans être entravé par une phase de calcification active telle que nous l'avons observée sur le banc Dagnas. L'empilement des poches gélatineuses successivement formées donne des coquilles en forme de « boulet » dont le volume intervalvaire est considérablement réduit : chez certaines huîtres du port de Boyardville à la fin de l'expérimentation, la régression était de l'ordre de 25 %.

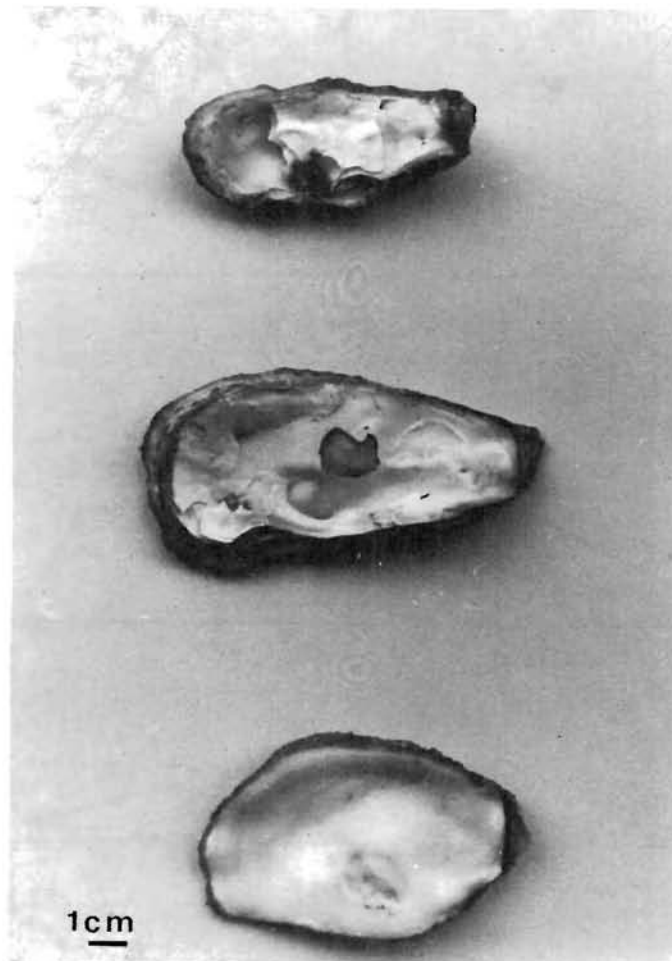


FIG. 9. — Anomalies de calcification de la valve supérieure des huîtres mises en expérimentation dans le bac A (en haut) et dans le port de Boyardville (au centre), comparées à l'aspect normal des huîtres témoins (en bas).

Quelques spécimens particulièrement affectés présentent une pousse totalement anarchique avec développement d'une lamelle calcaire perpendiculaire à la bordure de la face interne de la

valve supérieure. Ces observations démontrent que les dérivés organostanniques sont susceptibles de provoquer expérimentalement chez l'huître *C. gigas* des anomalies de calcification similaires à celles observées sur les parcs à huîtres.

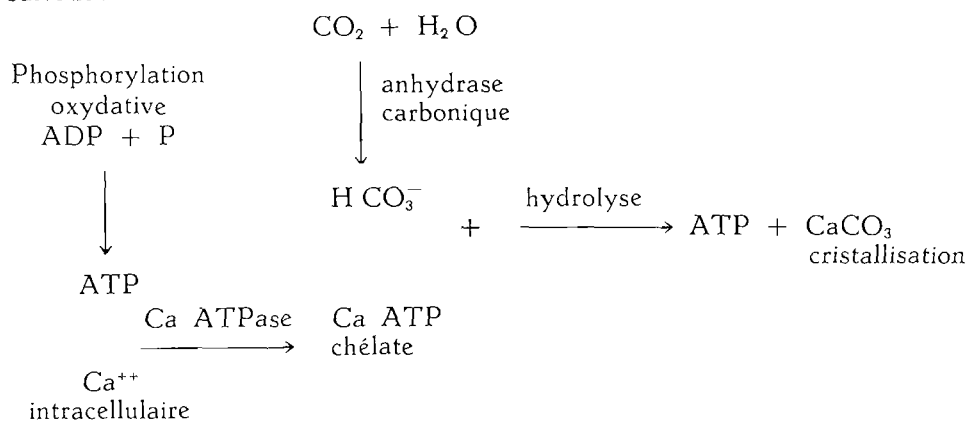
#### 4. Discussion.

Nos résultats démontrent que les huîtres adultes *C. gigas* ne peuvent survivre à l'intérieur des zones portuaires et que leur croissance, ainsi que la calcification de leur coquille, sont d'autant plus perturbées que les parcs d'élevage sont situés à proximité de concentrations de navires.

Des effets identiques, toxicité à moyen terme, anomalies de calcification, peuvent être provoqués expérimentalement en présence de peintures antisalissures agissant par mise en solution des dérivés organostanniques, qui se retrouvent par conséquent dans les eaux portuaires. Les teneurs en étain total rencontrées dans les chairs d'huîtres confirment que les conditions des expérimentations menées dans les bacs sont compatibles avec celles que l'on peut rencontrer dans le milieu naturel : la contamination dans le bac A est environ quatre fois plus faible que celle du port de Boyardville.

La période d'apparition du gel conduisant à la formation de poches gélatineuses est indépendante des teneurs en étain accumulées dans les tissus ; elle coïncide souvent avec la période de croissance des huîtres. La sécrétion de gel par les huîtres élevées sur parc est rapidement stoppée par une phase de calcification active qui semble inhibée en présence d'apports continus en organostanniques. C'est ainsi que cette inhibition s'est traduite par la présence de gel dans les huîtres du bac A pendant le mois de décembre, alors qu'à cette période de l'année il n'a jamais été observé chez les huîtres élevées dans le bassin de Marennes-Oléron.

Nos résultats ne permettent pas d'identifier par quels processus les organostanniques dérèglent la calcification. Cependant les données sur la cytotoxicité des trialkylétains, obtenues en grande partie par des expérimentations chez les mammifères, tendent à montrer qu'ils sont susceptibles d'agir tant au niveau de la cristallisation du carbonate de calcium que de la synthèse de la matrice organique. ALDRIDGE et STREET (1964) ont montré que les trialkylétains sont des inhibiteurs de la phosphorylation oxydative : ils stimulent l'activité de l'adénosine triphosphatase qui intervient sur la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP) donc sur le transfert d'énergie dans le couple ATP - ADP. En théorie, l'ATP contribuerait à la cristallisation du carbonate de calcium selon le mécanisme suivant :



Sous l'action d'une phosphatase alcaline pouvant jouer le rôle d'une Ca ATPase, les ions  $\text{Ca}^{++}$  donneraient avec l'ATP un chélate, Ca ATP, qui serait hydrolysé par l'acide carbonique formé à partir de gaz carbonique et d'eau en présence d'anhydrase carbonique. Les trialkylétains qui bloquent la synthèse de l'ATP peuvent théoriquement inhiber le déroulement de ce processus. SIMKISS (1976) souligne d'ailleurs que toute substance inhibitrice de la phosphorylation oxydative ou de la glycolyse inhibe généralement la calcification.

Les trialkylétains peuvent se lier aux chaînes protéiques et donner avec les  $\alpha$  et  $\beta$  aminoacides des complexes tel que le glycinate de tributylétain qui se trouve vraisemblablement sous forme

polymérisée, EVANS et SMITH (1975). La protéine constituant la matrice organique est formée par certains  $\alpha$  aminoacides tels que glycine, sérine, alanine, acides aspartique et glutamique, dont KRAMPITZ *et al.* (1976) ont montré qu'ils assuraient la liaison avec les ions calcium. Leur complexation avec des dérivés organostanniques pourrait être à l'origine de la sécrétion du gel de nature protéique, mais impropre à fixer le calcium. S'il en était ainsi l'absence d'étain dans le gel tendrait à montrer que la complexation aurait une origine intracellulaire.

Les dérèglements de la biosynthèse protéique ou de la phosphorylation oxydative ne semblent pas être les seuls mécanismes biochimiques impliqués dans la formation des anomalies. En effet, HÉRAL *et al.* (1981) signalent un appauvrissement important (40 à 50 %) en naphthoquinones dans les tissus des huîtres présentant des malformations. Les naphthoquinones, assimilables aux vitamines K, connues pour leur activité de coagulants sanguins, favorisent la liaison entre le calcium et l'acide glutamique et jouent un rôle actif dans le transport des électrons lors de la phosphorylation oxydative.

### Conclusion.

Les résultats de nos travaux expérimentaux démontrent que la dispersion dans le milieu des dérivés organostanniques contenus dans les peintures antisalissures perturbent les mécanismes de calcification de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en donnant des coquilles à structure lamellaire, dans laquelle se trouvent des poches renfermant une substance gélatineuse. Ces malformations sont d'autant plus accentuées que l'on se trouve à proximité immédiate des zones portuaires. De ce fait, les aires de stationnement de bateaux traités par des peintures antisalissures à base d'organostanniques représentent, en zone conchylicole, un danger pour l'exploitation des huîtres creuses *C. gigas*. Si l'on ne peut affirmer que les organostanniques sont responsables des multiples difficultés rencontrées dans certains bassins, où le renouvellement des eaux est faible et les apports polluants divers, il n'en demeure pas moins qu'ils constituent l'une des causes directes de malformation des coquilles.

*Manuscrit remis en mars 1982.*

### BIBLIOGRAPHIE

- ALDRIDGE (W.N.) et STREET (B.W.), 1964. — Oxidative phosphorylation: biochemical effects and properties of trialkyltins. — *Biochem. J.* **91**: 287-297.
- ALZIEU (Cl.), THIBAUD (Y.), HÉRAL (M.) et BOUTIER (B.), 1980. — Evaluation des risques dus à l'emploi des peintures antisalissures dans les zones conchylicoles. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **44** (4): 301-348.
- EVANS (J.C.) et SMITH (P.J.), 1975. — Organotin-based antifouling systems. — *J. Oil Col. Chem. Assoc.*, **58**: 160-168.
- HÉRAL (M.), BERTHOMÉ (J.-P.), POLANCO TORRES (E.), ALZIEU (Cl.), DESLOUS-PAOLI (J.-M.), RAZET (D.) et GARNIER (J.), 1981. — Anomalies de croissance de la coquille de *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléron. Bilan de trois années d'observation. — C.I.E.M., CM 1981/K: 31.
- KRAMPITZ (G.), ENGELS (J.) et CAZAUX (C.), 1976. — Biochemical studies on water-soluble proteins and related components of gastropods shells. — *in*: The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants/WATABE (N.) et WILBUR (K.M.) ed. — Columbia: University of South Carolina Press, 155-173.
- SIMKISS (K.), 1976. Cellular aspects of calcification. — *in*: The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants/WATABE (N.) et WILBUR (K.M.) ed. — Columbia: University of South Carolina Press, 1-31.
- THIBAUD (Y.), 1980. — Analyse de l'étain par spectrophotométrie d'absorption atomique avec four électrothermique: application aux organismes marins. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **44** (4): 349-354.
- WARD (G.S.), CRAMM (G.C.), PARRISH (P.R.), TRACHMAN (H.) et SLESINGER (A.), 1981. — Bioaccumulation and Chronic Toxicity of Bis (tributyltin) Oxide (TBTO): Tests with a Saltwater Fish. — *in*: Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fourth Conference, ASTM STP 737, BRANSON (D.R.) et DICKSON (K.L.) ed. — American Society for testing and Materials: 183-200.