

**LE DANGER DES TRAITEMENTS
PAR LE SULFATE DE CUIVRE EN ZONE CONCHYLICOLE :
TOXICITE VIS-A-VIS DES ŒUFS
ET DES JEUNES LARVES DE *CRASSOSTREA GIGAS***

par Edouard HIS et René ROBERT ⁽¹⁾

Résumé

Le sulfate de cuivre, utilisé en solution pour détruire les organismes encroûtants sur les parcs ostréicoles, est toxique pour les œufs et les larves D de *Crassostrea gigas*. Son action se fait sentir sur l'embryogénèse au-dessus de la valeur de 25 µg/l et sur les larves D dont la croissance est affectée dès la valeur de 100 µg/l. Ce sel est cependant moins toxique que le chlorure de cuivre.

Abstract

Oyster farmers use a solution of copper sulphate to kill competitors and seaweeds on their oyster grounds. Experiments describe the influence of this product on embryos and D larvae of *Crassostrea gigas*. Concentrations above 25 µg/l are toxic for embryos, and above 100 µg/l disturb growth of more resistant D larvae. However this product is less toxic than copper chloride.

Introduction.

Le développement de l'élevage en poches ostréicoles dans le bassin d'Arcachon s'est traduit par une augmentation du nombre des supports que nécessite ce type d'élevage et, par là même, des surfaces offertes aux organismes épiphytes et encroûtants d'origine animale (bryozoaires, ascidies, crustacés cirripèdes) ou végétale (ulves, entéromorphes, fucus). Le phénomène est favorisé par l'augmentation sensible des parcs abandonnés, à la suite du manque de captage depuis plusieurs années, qui constituent des foyers permanents de propagation.

(1) I.S.T.P.M., 63, boulevard Deganne, 33130 Arcachon.

Il s'ensuit une colonisation des structures conchyliques (chantiers, pignots, matériaux divers) et un colmatage rapide des mailles des poches ostréiques : la circulation de l'eau vectrice de nourriture se fait mal ; les organismes fixés détournent par ailleurs à leur profit la nourriture indispensable à une croissance rapide des mollusques (DAVID, 1971).

Pour lutter contre ces salissures les ostréiculteurs ont recours à une méthode ancienne qui était préconisée jusqu'à ces dernières années : le traitement sur parc à l'aide d'une solution de sulfate de cuivre à 7‰, généralement effectué au printemps, mais qui a tendance à se généraliser toute l'année, même pendant la saison de reproduction. Plusieurs tonnes de sulfate de cuivre sont ainsi utilisées annuellement sur le bassin, ce qui nous a conduit à rechercher si ce produit avait un effet toxique sur les œufs et les jeunes larves de *Crassostrea gigas*.

1. Protocole expérimental.

La maturation des *Crassostrea gigas* a été effectuée en circuit fermé selon la technique de GÉRARD (1978), les huîtres, prélevées sur parc au mois d'avril, étant maintenues à la température de $21 \pm 1^\circ \text{C}$. Elles recevaient quotidiennement de 5 à 10 litres de cultures monospécifiques de *Pavlova lutheri* et de *Tetraselmis suecica* aux concentrations respectives de 8×10^6 et 10^6 cellules/ml. L'eau de mer des bacs de conditionnement était changée une fois par semaine.

Début mai, le stock était mûr. La ponte a été réalisée par choc thermique et stimulation chimique (suspensions de gamètes en eau de mer). Chaque sujet en train de frayer était isolé dans un premier bûcher stérile contenant de l'eau de mer filtrée ; puis au bout d'une minute il était placé dans un nouveau récipient dans lequel étaient recueillis les gamètes utilisés pour nos expériences, ce qui permettait d'éliminer les gamètes issus des opérations de stimulation chimique.

Pontes et élevages ont été réalisés en eau de mer prélevée à 6 milles au large du cap Ferret, la salinité étant ramenée à la valeur de 32‰ par adjonction d'eau distillée. Avant utilisation, l'eau de mer était filtrée sur membrane millipore en acétate de cellulose de porosité $0.2 \mu\text{m}$ (eau de mer stérile).

Les œufs de trois femelles, lavés en eau de mer stérile, étaient passés à travers un tamis de porosité $100 \mu\text{m}$ et retenus sur un tamis de porosité $32 \mu\text{m}$. Ils étaient comptés et répartis à raison de 20/ml d'eau dans des bûchers stériles de deux litres contenant différentes concentrations de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$). Les fécondations étaient réalisées immédiatement, en présence du sel métallique, à l'aide d'une suspension dense de sperme fraîchement émis (1,5 cc par litre d'élevage). Les élevages, effectués en double à chaque concentration, étaient menés à la température de $24 \pm 1^\circ \text{C}$.

Au cours de travaux antérieurs (HIS et ROBERT, 1980, 1981 ; ROBERT et HIS, 1981) nous avons constaté que les œufs en cours de fécondation avaient une sensibilité plus grande vis-à-vis des micropolluants que les larves D âgées de 24 heures. C'est la raison pour laquelle nous avons effectué deux séries d'observations :

la première pour tester l'action du sulfate de cuivre dès la fécondation sur la formation des larves D et sur leur évolution aux concentrations de 0 (témoin), 10, 25, 50, 100, 150, 250 et 500 $\mu\text{g/l}$;

La seconde pour effectuer les mêmes tests mais en partant de larves D âgées de 24 heures et soumises ensuite à des concentrations de 0 (témoin), 50, 100, 150 et 250 $\mu\text{g/l}$.

Pendant la durée des expériences les véligères ont été alimentées selon les données de HELM et MILLICAN (1977) à l'aide de cultures d'*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* et *Tetraselmis suecica*. L'eau de mer a été changée 24 heures après les fécondations, puis les larves ont été réparties à raison cette fois seulement de 8/ml. Le renouvellement de l'eau était effectué tous les deux jours, avec adjonction simultanée de la quantité voulue de sulfate de cuivre.

Les observations (100 individus par élevage) ont porté sur :

le pourcentage d'œufs fécondés, la segmentation et la formation des larves D ;

le pourcentage de larves anormales, tant du fait de leur comportement (nage selon des mouvements désordonnés, mauvaise assimilation de la nourriture se traduisant par une faible

coloration des véligères) que de leur morphologie (charnière concave, échancrures des valves, velum déformé, LE PENNEC et LEROUX, 1979) ;

la mortalité larvaire ;

la croissance en taille des véligères pendant douze jours, exprimée par l'augmentation de la hauteur de la dissoconque (plus grande dimension du sommet de l'umbo au bord ventral), mesurée à 1,5 μm près, à la loupe binoculaire, sur clichés photographiques (50 individus par élevage).

2. Résultats.

Action du sulfate de cuivre dès la fécondation, sur le développement embryonnaire, la formation de larves D et leur croissance.

Age des véligères	Concentrations exprimées en $\mu\text{g/l}$							
	0	10	25	50	100	150	250	500
24 h	10	7,5	7,5	63	85	100	(a)	(b)
48 h	10	8	8	64	84	—	—	—

TABL. 1. — Pourcentages de larves D anormales obtenus au bout de 24 et 48 heures chez *Crassostrea gigas* quand les fécondations sont réalisées en présence de concentrations croissantes de sulfate de cuivre ; il y a formation de larves D jusqu'à la valeur de 150 $\mu\text{g/l}$ avec cependant des perturbations croissantes de la segmentation de 50 à 150 $\mu\text{g/l}$, puis ralentissement sensible (250 $\mu\text{g/l}$) et blocage total (500 $\mu\text{g/l}$) des segmentations, température 24° C, salinité 32‰ ; (a) trochophores aberrantes ; (b) 67,5 % d'œufs non segmentés.

Les premières observations ont été effectuées au bout de 24 heures (tabl. 1). A la concentration de 500 $\mu\text{g/l}$, 70 % des œufs ont été fécondés (présence de la membrane de fécondation) sans qu'il y ait segmentation (absence de globule polaire) ; parmi ceux-ci 25 % des œufs se sont divisés pour donner des masses cellulaires difformes. A la concentration de 250 $\mu\text{g/l}$ nous observons la présence de trochophores monstrueuses, de forme irrégulière se caractérisant par des protubérances cellulaires ciliées.

De 150 à 50 $\mu\text{g/l}$ nous constatons la présence de larves D ; celles-ci sont toutes franchement anormales à la concentration la plus élevée. Au cours de travaux antérieurs (HIS et ROBERT, 1981), nous avons constaté que ces jeunes larves n'évoluaient pas davantage, les élevages n'ont donc pas été poursuivis. Pour les valeurs de 100 et 50 $\mu\text{g/l}$ les pourcentages de larves anormales sont encore importants : 85 % et 63 % respectivement, dès les premières 24 heures. Ils n'augmentent pas de façon significative ultérieurement.

A 25 et 10 $\mu\text{g/l}$, nous ne notons que 7,5 % de véligères anormales, ces valeurs étant même légèrement inférieures à celles des témoins (10 %).

Les élevages réalisés à des concentrations inférieures ou égales à 100 $\mu\text{g/l}$ ont été poursuivis pendant 12 jours. A 100 $\mu\text{g/l}$ la mortalité, faible au départ (4 % en 48 heures), augmente progressivement (12 % le 6^e jour). Au 10^e jour la moitié de l'élevage est perdu : il s'agit dans la plupart des cas des véligères les plus petites, dont la croissance a été retardée. A 50 $\mu\text{g/l}$, la mortalité augmente progressivement (3 % et 6 % les 2^e et 6^e jours), elle atteint 30 % en fin d'observation. En dessous, elle reste faible et ne dépasse en aucun cas 8 %.

Les premières anomalies de comportement apparaissent dès la concentration de 50 $\mu\text{g/l}$ (nage sous forme de mouvements désordonnés, mauvaise assimilation de la nourriture se traduisant par une faible pigmentation du tractus digestif). Parallèlement la croissance est affectée (fig. 1 A).

Nous retrouvons ici un seuil très marqué à partir de 25 $\mu\text{g/l}$. Au-dessus de cette valeur la croissance moyenne, considérablement réduite, ne représente que 13 % de celle des témoins le 8^e jour, à 100 $\mu\text{g/l}$, et 17 % le 12^e jour, à 50 $\mu\text{g/l}$; et ceci en dépit du fait que la mortalité progressive des véligères les plus petites augmente la pente des courbes de croissance, en fin d'observations. On note toutefois, à 50 $\mu\text{g/l}$, à côté de larves dont la pousse a été pratiquement nulle, la présence de quelques véligères bien développées, ce qui donne aux élevages une hétérogénéité très marquée en ce qui concerne la taille des sujets. Ce phénomène, déjà sensible le 4^e jour, est particulièrement frappant en fin d'observations (pl. I et II).

Pour des concentrations plus basses, à 25 et 10 $\mu\text{g/l}$, nous notons un léger ralentissement de la croissance qui se manifeste à partir du 6^e jour.

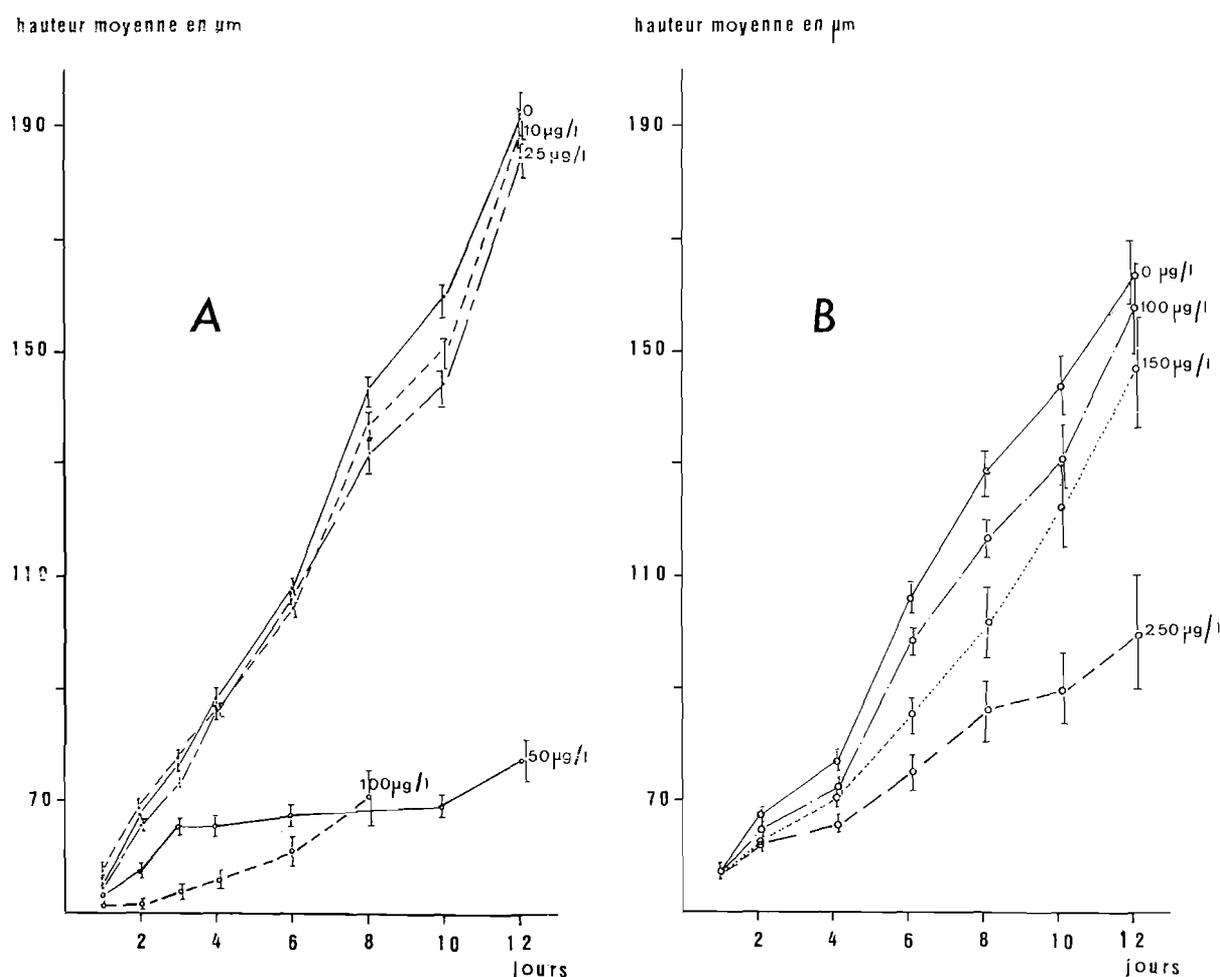


FIG. 1. — Action du sulfate de cuivre, sur la croissance des larves de *Crassostrea gigas*, (A) aux concentrations de 0 (témoin), 10, 25, 50 et 100 $\mu\text{g/l}$; (B) larves exposées à l'âge de 24 h à des concentrations de 0 (témoin), 100, 150 et 250 $\mu\text{g/l}$; la taille moyenne des véligères est exprimée au seuil des 95 % (température 24° C, salinité 32 ‰).

Action du sulfate de cuivre sur des larves D écloses en milieu non pollué.

Des larves D âgées de 24 heures ont été soumises à des teneurs en sulfate de cuivre comprises entre 0 et 250 $\mu\text{g/l}$. Une série d'observations a été faite sur des larves provenant des géniteurs utilisés précédemment, à des concentrations inférieures ou égales à 100 $\mu\text{g/l}$; une autre série, avec de nouveaux géniteurs, à des concentrations plus élevées.

Concentrations inférieures ou égales à 100 µg/l.

Aux teneurs de 50 et 100 µg/l, le pourcentage des anomalies ne dépasse pas la valeur du témoin (10 %) et la mortalité, dans les trois cas, est restée inférieure à ce pourcentage. L'étude de la croissance larvaire confirme la faible influence du produit (tabl. 2), la hauteur moyenne de la dissoconque montrant peu de différence entre témoins et élevages effectués à 50 µg/l. Un retard de croissance se manifeste, plus particulièrement à partir du 3^e jour, mais l'évolution générale de la population est satisfaisante.

Age des larves exprimé en jours	Concentrations exprimées en µg/l		
	0	50	100
1	55,48 ± 0,57	55,48 ± 0,57	55,48 ± 0,57
2	65,25 ± 0,55	64,97 ± 0,67	64,20 ± 0,78
3	77,54 ± 0,85	75,50 ± 0,98	71,93 ± 0,94
4	88,45 ± 1,09	87,52 ± 0,97	81,88 ± 1,14
6	108,29 ± 1,69	106,13 ± 2,19	103,03 ± 1,96
8	143,43 ± 2,30	—	136,98 ± 2,64
10	159,68 ± 2,61	153,35 ± 3,73	145,54 ± 4,63
12	191,91 ± 5,03	184,02 ± 4,88	171 ± 4,95

TABLE. 2. — Hauteurs moyennes en µm, exprimées au seuil de sécurité de 95 %, des larves de *Crassostrea gigas* exposées à l'âge de 24 heures à des concentrations croissantes de sulfate de cuivre.

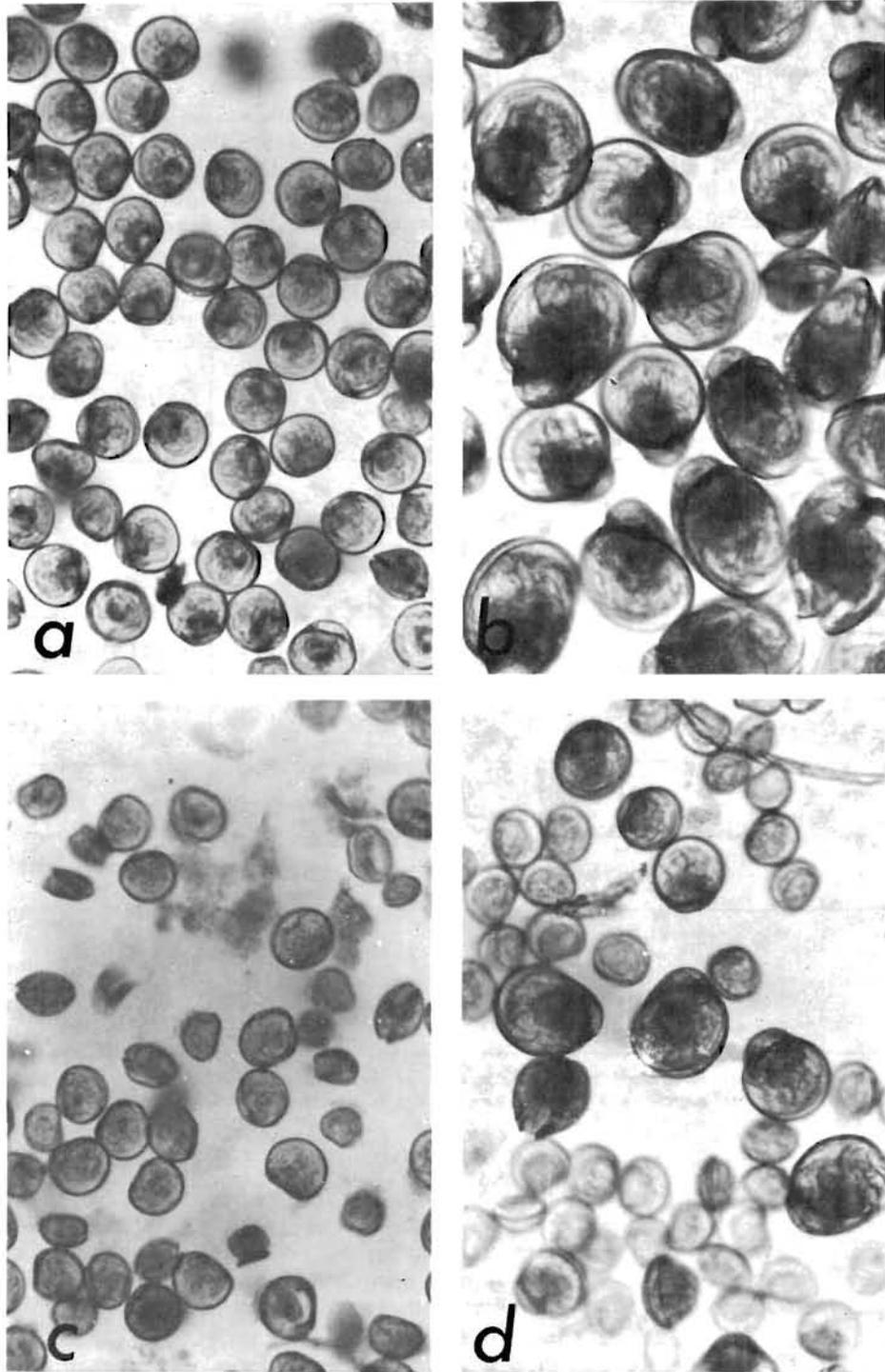
Concentrations égales ou supérieures à 100 µg/l.

Cette seconde série d'observations nous a permis de rechercher la valeur seuil à partir de laquelle des élevages sont fortement perturbés. Dans aucun cas aux concentrations de 100, 150 et 250 µg/l nous n'avons noté d'augmentation sensible du pourcentage des larves anormales sur le plan morphologique. Toutefois, dès le second jour, les larves soumises aux effets du sulfate de cuivre étaient moins colorées, ce qui indique une perturbation du régime trophique.

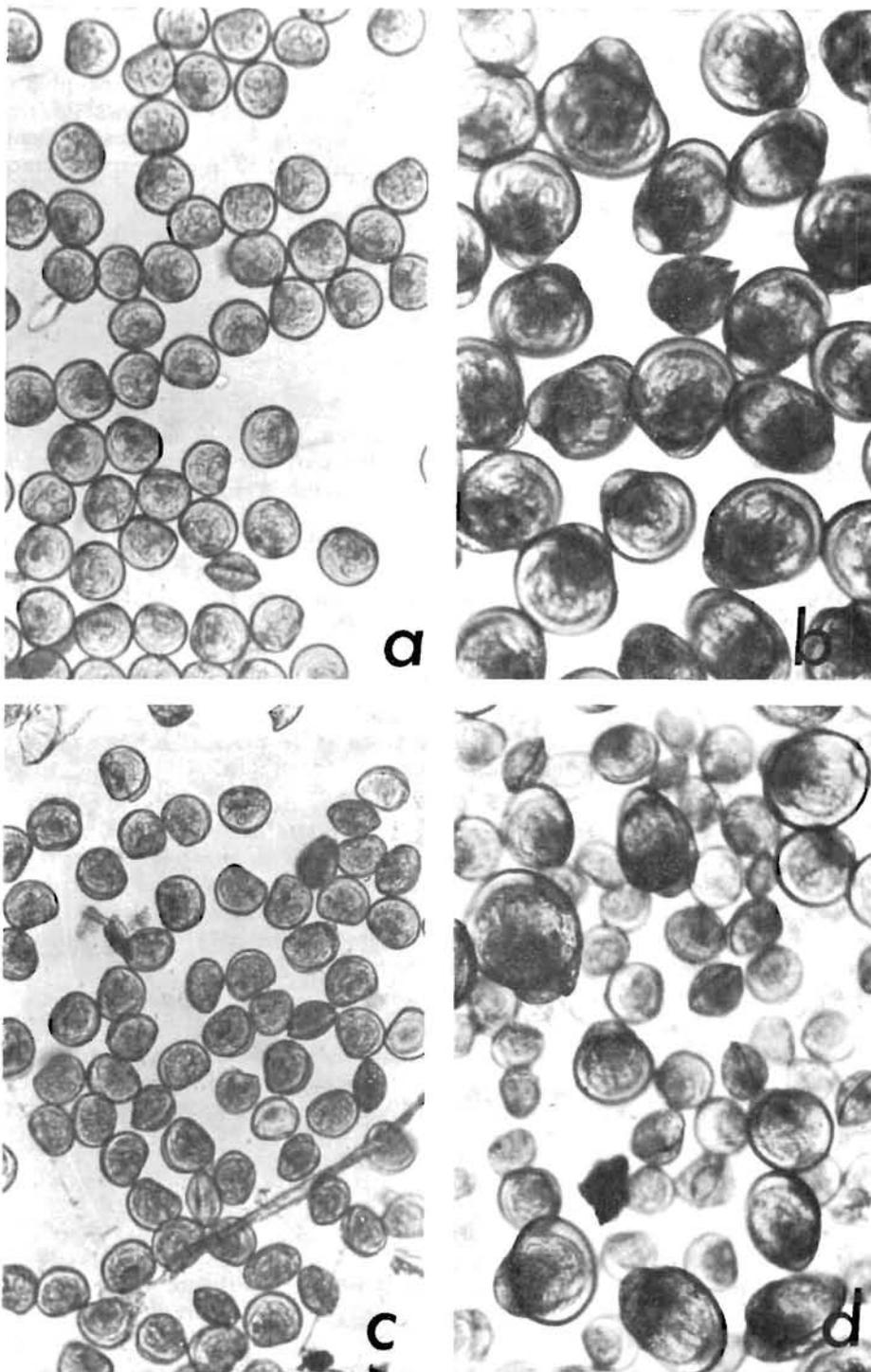
Les mortalités sont restées peu importantes : 13 % à 250 µg/l, 10 % à 150 µg/l et 7,5 % à 100 µg/l, contre 3 % dans les élevages témoins. Le léger frein de croissance précédemment noté à 100 µg/l a été retrouvé. Le phénomène s'intensifie aux valeurs supérieures (fig. 1 B) ; il est particulièrement marqué à 250 µg/l.

En fin d'expériences, la hauteur moyenne des larves (167,78 ± 6,66 µm dans les élevages témoins) diminue fortement avec l'adjonction de quantités croissantes de sulfate de cuivre :

- 154,22 ± 8,14 µm à 100 µg/l (réduction de 8 % environ par rapport au témoin) ;
- 146,36 ± 10,22 µm à 150 µg/l (réduction de 13 % environ par rapport au témoin) ;
- 98,70 ± 10,88 µm à 250 µg/l (41 % de réduction par rapport au témoin).



PL. I. — Action du sulfate de cuivre sur la croissance des larves D de *Crassostrea gigas* ; a et b : larves aux 4^e et 12^e jours (élevages témoins) ; c : larves exposées à la concentration de 50 µg/l le 4^e jour ; on peut remarquer l'existence de larves D de taille normale et d'individus franchement plus petits ; d : les mêmes larves que (c), le 12^e jour l'hétérogénéité de la population, en ce qui concerne la taille, s'est franchement accentuée, seule une faible partie de la population a continué sa croissance ; on note des mortalités importantes parmi les larves qui n'ont pas poussé.



Pl. II. — Action du sulfate de cuivre sur la croissance des larves D de *Crassostrea gigas* exposées depuis l'âge de 24 h à la concentration de 250 µg/l ; a et b : élevages témoins les 4^e et 12^e jours ; c : élevage effectué à 250 µg/l le 4^e jour, une faible partie de la population larvaire ne pousse pas ; d : les mêmes larves que (c), le 12^e jour, l'hétérogénéité de la population, en ce qui concerne la taille des véligères, est très marquée : une faible partie seulement de la population présente une taille normale, toutefois les mortalités larvaires sont peu importantes à ce jour.

Parallèlement la composition en taille des populations larvaires devient de plus en plus hétérogène dès le 4^e jour (fig. 2). Si l'on considère comme anormales les hauteurs inférieures à celles des plus petites véligères dans les élevages témoins, nous notons les résultats suivants : 14 % et 42 % des larves ont une taille anormale le 4^e jour, à 150 et 250 µg/l respectivement ; 32 % et 78 % en fin d'expériences.

Une observation identique avait été faite sur les véligères formées en milieu pollué dès la concentration de 50 µg/l. Toutefois, dans le cas présent, les véligères dont la croissance est inhibée sont moins affectées par les mortalités.

3. Discussion.

Le sulfate de cuivre, aux conditions de l'expérience (24° C et 32‰), n'a aucune action jusqu'à la concentration de 25 µg/l (6,3 µg/l d'ion cuivrique) sur le développement embryonnaire lorsque les fécondations sont réalisées en présence de ce produit. Il permet l'obtention de larves D jusqu'à 150 µg/l mais la segmentation est de plus en plus perturbée quand la concentration augmente, elle est freinée à 250 µg/l et totalement inhibée à 500 µg/l. En ce qui concerne la croissance, la valeur de 25 µg/l constitue également un seuil au-delà duquel elle est ralentie mais de façon inégale selon les larves, ce qui introduit une hétérogénéité dans la composition en taille de la population : certaines véligères sont peu affectées, d'autres au contraire voient leur croissance fortement retardée et subissent une mortalité importante.

Les larves D de 24 heures, écloses en milieu non pollué, sont moins sensibles. A 50 µg/l (12,7 µg/l d'ion cuivrique) et au-dessous de ce seuil, le sulfate de cuivre n'a pas d'action. Au-dessus, la modification inégale du taux de croissance et le déséquilibre en taille qu'il entraîne s'accroissent progressivement avec la concentration.

Si l'on compare les teneurs respectives en ions cuivriques des deux sels, le sulfate est cependant moins toxique que le chlorure de cuivre pour lequel la limite de sensibilité se situe à 10 µg/l (6,4 µg/l d'ion cuivrique) pour les œufs fécondés, tandis qu'au seuil de 25 µg/l (16 µg/l d'ion cuivrique) les larves D présentent un retard de croissance marqué (HIS et ROBERT, 1981). De façon générale les anions associés au cuivre influent sur la toxicité de ce dernier (ALZIEU *et al.*, 1980). Dans le cas particulier des larves de *Crassostrea virginica* une plus grande sensibilité à l'égard des chlorures que des nitrates a été observée (MCINNES, 1981).

Le sulfate de cuivre semble donc une forme saline moins toxique pour les œufs et les larves D de *Crassostrea gigas*. Toutefois il faut rappeler, qu'en dehors d'une action directe, les sels métalliques sensibilisent les véligères aux conditions difficiles du milieu (MCINNES *et al.*, 1979) et que des actions de synergie entre micropolluants métalliques ont pu être mises en évidence sur les véligères de *Crassostrea virginica* (MCINNES, 1981) et de *Crassostrea gigas* (BRERETON *et al.*, 1973).

Conclusion.

Le traitement au sulfate de cuivre en zone conchylicole constitue donc un danger pour la reproduction naturelle, particulièrement dans une baie fermée comme le bassin d'Arcachon où le renouvellement des masses d'eau se fait mal, ce qui est peu favorable à la dilution puis à l'élimination d'éventuels micropolluants. Ceci devrait conduire à rechercher d'autres solutions aux problèmes posés par la fixation des salissures sur les installations ostréicoles :

tout d'abord en s'en prenant à la source, c'est-à-dire en supprimant les parcs à l'abandon et en nettoyant plus fréquemment les installations conchylicoles par remise à terre périodique du matériel ;

en supprimant ensuite tout apport direct ou indirect dans le milieu d'éléments toxiques par traitement à terre, éventuellement au sulfate de cuivre dans la mesure où les eaux résiduelles ne retournent pas à la mer, ou par traitement à l'eau douce ou à la saumure (MARTEIL *et al.*, 1979).

Rappelons enfin la technique originale décrite par WOLF (1966) pour débarrasser les huîtres adultes de leurs épibiontes et qui consiste en une immersion durant trois secondes en eau de mer portée à la température de 82° C puis à la remise immédiate en eau de mer à la température ambiante. L'épaisseur de la coquille protège les mollusques du choc thermique, tandis que les ascidies, les éponges et les algues sont détruites.

Manuscrit remis en avril 1982.

BIBLIOGRAPHIE

- 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.
- BRERETON (A.), LORD (H.), THORNTON (I.) et WEBB (J.S.), 1973. — Effect of zinc on growth and development of larvae of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. — *Marine Biology*, **19** : 96-101.
- DAVID (A.), 1971. — Relations trophiques entre le plancton, les huîtres d'élevage et les ciones, épibiontes. — *Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit.*, n° **201** : 13 p.
- GÉRARD (A.), 1978. — Recherches sur la variabilité de diverses populations de *Ruditapes decussatus* et *Ruditapes philippinarum* (Veneridae, Bivalvia). — Thèse 3^e cycle. Brest : 149 p.
- HELM (M.M.) et MILLICAN (P.F.), 1977. — Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*Crassostrea gigas* Thunberg). — *Aquaculture*, **11** : 1-12.
- HIS (E.) et ROBERT (R.), 1981. — Effects of copper chloride on the eggs and D larvae of *Crassostrea gigas* (Thunberg). Preliminary results. — *Cons. int. Explor. Mer. C.M.* 1981/F : **43**, 13 p.
- LE PENNEC (M.) et LE ROUX (S.), 1979. — Effets d'un pétrole brut sur la formation de la coquille de *Mytilus edulis* (L.) (Mytilidae, Bivalvia). — *Rev. Int. Océanogr. Méd.*, **55** : 49-55.
- MC INNES (J.R.), 1981. — Response of embryos of the American oyster, *Crassostrea virginica*, to heavy metal mixtures. — *Mar. Environn. Research*, **4** : 217-227.
- MC INNES (J.R.) et CALABRESE (A.), 1979. — Combined effects of salinity, temperature, and Copper on embryos and early larvae of the American oyster, *Crassostrea virginica*. — *Arch. Environn. Contam. Toxicol.*, **8** : 553-562.
- MARTEIL (L.), 1979. — La lutte contre les ennemis de l'huître et de l'ostréiculture. *La conchyliculture française*, 3^e partie. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **43** (1) : 408-422.
- ROBERT (R.) et HIS (E.), 1981. — Action de l'acétate de tributyle-étain sur les œufs et les larves D de deux mollusques d'intérêt commercial, *Crassostrea gigas* (Thunberg) et *Mytilus galloprovincialis* (Lmk). — *Cons. int. Explor. Mer. C.M.* 1981/F : **42**, 15 p.
- WOLF (P.), 1966. — Woolli man controls spatfall cheaply. — *The Fisherman*, Sydney, Australie, décembre 1966 : 15-16.