

III

TOXICITE RELATIVE DE PRODUITS ANTIPETROLE SUR DEUX ORGANISMES MARINS

par Claude ALZIEU

L'influence du déversement d'un toxique sur la faune et la flore marines peut se manifester immédiatement ou à plus long terme, directement ou indirectement. On parle de toxicité aigüe, quand un tel produit est capable de faire disparaître une ou plusieurs espèces en un espace de temps relativement court (2 à 3 jours). Mais les effets néfastes peuvent se manifester au cours d'une période plus longue pouvant atteindre plusieurs mois, par exemple lorsqu'ils interviennent dans les phénomènes de reproduction ; on parle alors de toxicité à long terme.

Un polluant soluble dans l'eau peut ne pas être directement toxique pour une espèce donnée mais lui faire subir cependant les déséquilibres biologiques qu'il engendre dans le milieu ; on parle alors de toxicité transmise.

Deux cas peuvent se produire.

a) Le toxique entraîne la disparition massive d'espèces inférieures qui constituent l'unique nourriture d'animaux supérieurs. Il y a alors une rupture dans la chaîne alimentaire et nocivité par privation de nourriture.

b) Le toxique existant en quantité infinitésimale dans l'eau est concentré par des organismes inférieurs relativement insensibles mais qui le transmettent aux espèces plus sensibles qui s'en nourrissent.

La nocivité exacte d'un polluant est donc difficile à évaluer. Une manière d'y parvenir consiste à déterminer son influence sur un ensemble d'espèces représentant les différents maillons d'une chaîne alimentaire nécessaire à l'équilibre biologique du milieu vivant.

I. - Les pollutions d'origine pétrolière.

La pollution marine prend une allure de catastrophe lorsque, par suite d'un accident, des milliers de tonnes de pétrole se trouvent répandues à la surface de la mer. Les hydrocarbures s'étalent alors en nappes d'une très grande superficie et de faible épaisseur. Le nombre toujours croissant d'accidents de ce type a donné l'occasion aux chercheurs d'estimer *in situ* les différents types de toxicité dus au déversement massif de produits pétroliers.

Ainsi, en mai 1957, le « Tampico-Maru » déversait plus de 50 000 barils de fuel dans une baie de Californie où, par chance, les peuplements marins avaient été observés par NORTH quelques temps auparavant. Ceci permit de noter la résistance de différentes espèces et le temps nécessaire à certaines d'entre elles pour réapparaître. Sept ans après la catastrophe l'équilibre biologique n'était pas rétabli ; la majorité des espèces avait réapparu mais l'absence de prédateurs avait entraîné la prolifération anormale de certaines d'entre elles.

Dix ans plus tard, en 1967, le « Torrey-Canyon » échoué au large des côtes de la Cornouaille anglaise libérait 117 000 tonnes de pétrole brut de Koweït qui allaient se répandre sur les côtes anglaises et françaises. Dans ce cas, la pollution fut différente car pour la première

fois des produits renfermant des substances tensioactives et des solvants aromatiques furent utilisés à doses massives pour disperser les nappes. Les observations directes sur la faune et la flore des zones polluées donnèrent des indications sur l'influence du pétrole brut seul, comme sur celle du pétrole émulsionné, car seule une portion du pétrole échappé du « Torrey-Canyon » fut traitée chimiquement.

D'autres exemples d'accidents pétroliers pourraient être cités, en particulier celui de la baie de Santa Barbara, polluée par un forage en mer. Dans la plupart des cas, les études entreprises sur le terrain à l'occasion de ces sinistres ont donné de nombreux enseignements sur la conduite à suivre pour minimiser les conséquences d'accidents ultérieurs. Cependant, on ne peut compter sur les accidents pour faire une étude systématique. Plusieurs auteurs ont mis au point des tests de laboratoire pour étudier la nocivité relative des polluants sur la faune et la flore marines.

II. - Méthodologie des tests de toxicité.

Ces études se sont multipliées ces dernières années en raison de la prise de conscience du danger que représentent les déversements multiples de produits en mer. Elles ont été développées surtout sur les produits antipétrole et le pétrole lui-même qui représente l'un des risques les plus fréquents. Notons que le pétrole en soi est relativement peu toxique. ALJAKRINSKAYA a trouvé que les moules pouvaient filtrer jusqu'à 10 ml/l de pétrole sans gêne apparente. Cependant, selon CHIPMAN et GALTSOFF, la présence d'hydrocarbures dans l'eau de mer réduit nettement le temps d'ouverture des valves de l'huître ; son taux de pompage passe de 207-310 l/j à 2,9-1 l/j.

Les auteurs choisissent, ordinairement, comme espèces expérimentales des organismes du plancton, des crustacés ou des poissons très courants dans les peuplements littoraux, faciles à acclimater en milieu artificiel et sensibles aux polluants. Les plus couramment utilisés pour tester la toxicité des produits tensioactifs sont :

Phytoplancton :	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	LACAZE 1969.
Zooplancton :	<i>Artemia salina</i>	AUBERT 1969.
Cirripèdes :	<i>Balanus balanoides</i>	CHIPMAN 1949.
	<i>Elminius modestus</i>	
Hydrozoaires :	<i>Tubularia crocea</i>	
Polychètes :	<i>Scolecopsis fuliginosa</i>	BELLAN 1970.
	<i>Capitella capitata</i>	
Algues :	<i>Ascophylum nodosum</i>	PRIOU 1967.
	<i>Fucus vesiculosus</i>	
Crevettes :	<i>Crangon crangon</i>	BEYNON 1970.
		PORTMANN 1970.
	<i>Pandalus montagui</i>	PORTMANN 1970.
Crabes :	<i>Carcinus meanas</i>	PORTMANN 1970.
Oursins :		Institut de Pasadena
Clams :	<i>Venus mercenaria</i>	GALTSOFF 1949.
Huîtres :	<i>Crassostrea virginica</i>	CHIPMAN 1949.
Moules :	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	FORET MONTARDO 1970.
Coques :	<i>Cardium edule</i>	BEYNON 1970.
		PORTMANN 1970.

Les tests visent à déterminer soit un taux de mortalité, soit un taux de croissance, soit une influence sur le développement larvaire, soit des réactions physiologiques lorsque les organismes sont soumis à différentes concentrations de polluant. Ils donnent une idée de la toxicité immédiate d'un polluant et permettent de prévoir les ruptures engendrées par la disparition des espèces les plus sensibles.

Afin de s'approcher davantage des conditions naturelles, certains chercheurs utilisent un ensemble d'espèces, dit écosystème, dans le but de reproduire les enchaînements habituels

d'espèces rencontrées dans la nature et de mieux mettre en évidence les effets indirects des polluants à l'état très dilué. Bien que cette technique soit plus significative que les essais sur une espèce isolée, elle garde un caractère arbitraire par le choix des espèces dont le nombre est forcément limité. Ils exigent de plus des installations plus élaborées que celles dont nous disposons au moment de cette étude.

Mesure d'un taux de mortalité.

Les techniques habituellement mises en œuvre sont très voisines de celle utilisée par PORTMANN qui est décrite ci-dessous.

Les individus testés, groupés par lots homogènes, sont exposés pendant 48 h ou 96 h à différentes concentrations d'antipétreole dans un ensemble d'aquariums maintenus à température constante. Un lot placé dans un bac exempt de pollution sert de témoin. L'eau des aquariums n'est pas remplacée en cours d'expérience, la réoxygénation du milieu se faisant par barbotage d'air comprimé. Les animaux morts sont enlevés au fur et à mesure de façon à ne pas provoquer une pollution secondaire. A la fin du test, on dénombre les animaux morts dans chaque lot. Le taux de mortalité en fonction de la concentration est reporté sur une courbe à partir de laquelle sont définies :

- a) la dose minimale létale : concentration minimale nécessaire pour entraîner la mort d'un individu ;
- b) la dose moyenne létale : concentration ayant entraîné la mortalité de 50 % des animaux mis en expérience.

Mesure d'un taux de croissance.

La mesure tend à déterminer l'influence des produits sur des espèces dont le temps normal de croissance est très court, par exemple les organismes unicellulaires. Ceux-ci se reproduisent par division binaire : chaque division

donne une cellule mère et une cellule fille douée des mêmes propriétés physiologiques. A chaque génération, la population d'une culture est donc doublée. La loi de reproduction est une fonction exponentielle $N = 2^x$ ou N est le nombre de cellules présentes et x le nombre de générations.

La population serait rapidement très nombreuse s'il n'y avait la disparition d'une partie des cellules par épuisement, appauvrissement du milieu, accumulation de déchets toxiques, etc.

En fait, la population tend à se stabiliser puis à régresser. La représentation graphique en fonction du temps affecte la forme des courbes de la figure 1 qui est relative à une diatomée unicellulaire placée dans des conditions de milieu différentes. On y distingue :

- une phase de latence, très courte quand les conditions de milieu sont favorables,
- une phase de croissance exponentielle,
- une phase de stabilité,
- une phase de régression.

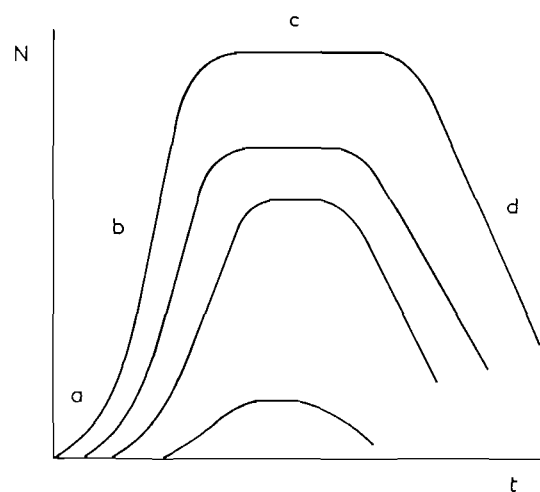


FIG. 1. — Courbe de croissance type d'une algue unicellulaire. a) phase de latence, b) phase de croissance exponentielle, c) phase de stabilité, d) phase de régression.

Les toxiques agissent soit en bloquant la division cellulaire, soit en détruisant les cellules. De ce fait, le temps de latence est prolongé et la phase exponentielle raccourcie.

La technique consiste à introduire successivement dans une série de tubes, le milieu nutritif, le polluant à diverses concentrations et un volume connu d'une culture fraîche de l'organisme, chaque tube contenant approximativement le même nombre de cellules.

L'évolution des cultures est suivie régulièrement soit par comptage direct au microscope, soit par mesure turbidimétrique par rapport à des tubes témoins. A la fin de la phase exponentielle

les cellules sont dénombrées dans chaque tube. La concentration, entraînant 50 % de la croissance normale, est déterminée graphiquement à partir de la courbe donnant le pourcentage de croissance par rapport aux témoins en fonction de la concentration en antipétrole. Cette technique a été employée en particulier par LACAZE qui a utilisé comme organisme d'expérience la diatomée *Phaeodactylum tricorutum* BOHLIN.

Etude du développement larvaire.

Le passage de l'état larvaire à l'état adulte représente une phase particulière de la croissance au cours de laquelle l'individu est particulièrement fragile. Certains auteurs ont donc étudié la résistance d'individus à l'état larvaire en présence d'hydrocarbures et de produits antipétrole. MIRONOV a observé des larves de *Rhombus maesticus* en présence de 10^{-4} à 10^{-5} millilitre par litre de produits pétroliers, DOUGLAS des larves de *Sabellaria spinulosa* et CORNER des larves du barnacle *Elminius modestus* en présence de produits antipétrole. La mesure du taux d'éclosion ou du temps de survie des larves, selon le cas, permet d'apprécier la nocivité des produits.

Mesure des réactions physiologiques.

Au lieu de rechercher un effet global du toxique, certains auteurs ont tenté de mesurer les perturbations qu'il apporte aux fonctions vitales. CHIPMAN et GALTSOFF ont mis en évidence l'influence de doses sublétales de polluants sur l'huître en établissant un myogramme du muscle adducteur et en mesurant le volume d'eau filtrée en milieu pollué par rapport aux mêmes données obtenues en milieu non pollué. HALSBAND a mis au point des techniques permettant de détecter les modifications du métabolisme basal, du potentiel nerveux, de la formule sanguine, de la conductibilité électrique, de la teneur en potassium et sodium et de l'histologie de certaines espèces de poissons ayant séjourné quelque temps en milieu pollué.

III. - Choix des méthodes.

Dans le cas particulier des produits antipétrole les auteurs travaillant en laboratoire ont généralement adopté des essais sur un très petit nombre d'espèces. PORTMANN a mesuré, par exemple, la LD_{50} d'une trentaine d'émulsionnants sur 4 espèces; il a montré que, pour la coque, la LD_{50} varie alors entre 10 et 150 ppm. Selon CORNER la LD_{50} de 4 produits serait de 2 à 10 ppm pour le barnacle.

Pour notre part, nous avons considéré qu'il était difficile d'effectuer des observations nombreuses et variées dans le milieu naturel. Nous avons donc mesuré la toxicité immédiate des antipétroles sur un ensemble d'espèces tendant à reproduire une chaîne alimentaire composée par :

- des organismes planctoniques,
- des crustacés,
- des mollusques.

Nous avons d'abord trié les produits antipétrole à partir de leurs effets sur l'huître et sur une algue planctonique dont elle se nourrit. Les mesures ont consisté à déterminer, d'une part, la réaction de fermeture sur l'huître en présence d'un produit irritant, d'autre part, le taux d'inhibition de croissance sur le phytoplancton. Elles ont été faites, dans le cas des émulsionnants avec différentes concentrations, dans le cas des produits agglomérants et précipitants avec une dispersion du produit pulvérulent dans l'eau de mer.

Les produits qui se sont révélés les moins nocifs dans ces conditions ont été soumis par P. MAGGI à d'autres tests sur d'autres organismes afin de mieux apprécier leur innocuité relative.

Technique de mesure des réactions physiologiques de l'huître.

Un lot homogène d'huîtres provenant d'un même parc est brossé et lavé puis maintenu à la température de la salle d'expérience pendant quelques jours. Lorsque l'huître est acclimatée aux conditions expérimentales, la valve inférieure est fixée sur un socle de plâtre. Un fil souple de constantan relie la valve supérieure à un stylet inscripteur par l'intermédiaire d'un jeu de poulies et de contrepoids (fig. 2). Les mouvements d'amplitude valvaire sont enregistrés au cours du temps, au moyen d'un stylet inscripteur, sur le papier d'une table à défilement continu mû à la vitesse uniforme de 125 mm/h. Ce dispositif permet d'enregistrer le mouvement

valvaire de 3 à 4 huitres par table, selon leur taille, et permet une autonomie de mesure de 320 heures. La salle d'expérience est maintenue à la température de 10°C ± 3°C pendant toute la durée du test. Les aquariums contenant chacun un litre d'eau de mer par individu sont aérés en permanence par de l'air comprimé filtré et exempt d'impuretés, délivré par un compresseur à membrane. Ce système d'aération a pour effet de favoriser la dispersion homogène des produits pulvérulents ou liquides non miscibles, mais aussi de faciliter l'évaporation des fractions légères malgré une température d'expérience relativement basse. L'expérience ayant révélé que les solvants contribuent de façon non négligeable à l'action des produits testés, ce mode opératoire abaisse sensiblement la toxicité apparente. On peut toutefois estimer que la toxicité mesurée représente bien celle qui existerait effectivement en milieu marin puisque les mouvements de la houle et le vent entraînent aussi la disparition des fractions volatiles.

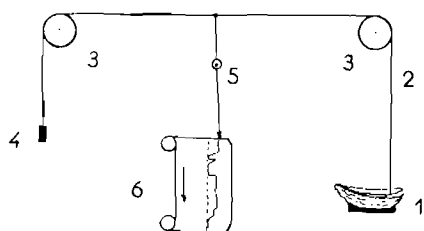


FIG. 2. — Schéma de l'appareillage utilisé pour la mesure des mouvements valvaires de l'huître. 1) huître, 2) fil de constantan, 3) poulies, 4) contrepois, 5) stylet inscripteur, 6) table enregistreuse.

Au début de l'expérience l'huître est placée au fond d'un aquarium rempli d'eau de mer et le mouvement valvaire est enregistré pendant 24 heures. Seules sont retenues pour la suite du test les huîtres restant ouvertes plus de 90 % du temps d'immersion. L'eau de mer propre est alors siphonnée et remplacée par l'eau de mer surchargée en polluant.

Le mouvement des valves est enregistré pendant 48 h, cette méthode permet de comparer l'activité d'un même individu en milieu non pollué et en milieu pollué par des doses sublétales de toxiques.

Nous avons appelé coefficient d'activité valvaire A le rapport de la durée d'ouverture % en milieu pollué sur la durée d'ouverture % en milieu non pollué. Si a et b sont les durées d'ouverture des valves respectivement en milieu pollué et non pollué on a :

$$A = a/b \quad \text{avec} \quad 0 < A \leq 1$$

Les mesures ont été faites sur 10 et 100 ppm de produit liquide ou 2 g de produit pulvérulent par litre d'eau de mer. De plus un essai a été conduit avec un mélange à parties égales de produit et de pétrole brut saharien afin de mettre en évidence une synergie éventuelle de l'action néfaste des produits et du pétrole. Les réactions de l'huître placée en eau de mer saturée en pétrole brut ont été également mesurées afin de connaître la nocivité de ces derniers.

Technique de mesure de l'inhibition de croissance d'une algue unicellulaire.

Une autre estimation de la toxicité des émulsionnants a été recherchée en examinant leur action sur la croissance d'une algue planctonique *Phaeodactylum tricoratum* BOHLIN. Cette diatomée, qui se cultive facilement en laboratoire en raison de sa résistance aux variations de température, a été choisie par de nombreux auteurs. Les cultures sont faites en tube à essai sur un milieu, mis au point par ERD SCHREIBER, qui contient 0,1 g de NaNO₃, 0,02 g de HNa₂PO₄ et 50 ml d'extrait de terre par litre.

Chaque tube à essai reçoit :

un inoculum (0,5 ml) contenant environ 100 000 cellules d'une culture en phase exponentielle de croissance,

une solution (1 ml) d'émulsionnant dans l'eau de mer,

8,5 ml de milieu nutritif de ERD SCHREIBER.

La quantité d'émulsionnant introduite est calculée de telle sorte que les concentrations soient 0-5-10-20-40-50-80-100-200 et 400 ppm après addition des différents volumes. Chaque série comprend 4 à 5 tubes témoins et 2 à 3 tubes par concentration de manière à établir une moyenne de croissance. Les cultures sont incubées à 25°C et éclairées sur un rythme nyctéméral de 12 h par un ensemble de tubes fluorescents dont le spectre du rayonnement émis est voisin de celui de la lumière solaire et l'intensité lumineuse au niveau des cultures supérieures à 2 000 lux. Pour limiter la sédimentation naturelle des cellules, les cultures sont agitées mécaniquement deux fois par jour. La croissance des cultures est suivie toutes les 48 h par mesure turbidimétrique au colorimètre en lumière jaune et en cuve de 1 cm d'épaisseur. Les turbidités atteintes sont restées inférieures à une densité optique de 1. Des comptages de cellules ont

N° du produit	Coefficient général	Activité valvaire			Phaeodactylum LC ₅₀ ppm
		10 ppm	100 ppm	10 + 10 ppm	
E 1	0,72	1	0,12	0,10	45-50
E 2	0,78	0,01	0,54	0,04	25
E 3	0,74	0,33	0,01	0,03	10
E 4	0,74	0,05	0,07	0,08	150
E 5	0,86	0,03	0,04	0,10	180
E 6	0,75	0,02	0,0	0,03	15
E 8	0,67	0	0	0,02	80
E 9	0,81	0,02	0,15	0,04	30
E 10	0,89	0,15	0	0,10	10
E 11	0,67	0,03	0,04	0,20	> 400
E 12	0,74	1	0,01	1	10
E 13	0,90	0,91	0,01	0	10
E 14	0,78	0	+	0	25
E 15	0,70	0	0,28	0,21	20
E 16	0,75	1	0,01	0,80	10
E 17	0,72	0	0,05	0,01	10
E 18	0,69	+	0,01	0,11	35
E 19	0,80	0,12	0	+	50
E 20	0,90	+	0	0,55	17
E 21	0,87	0	0	0,05	5
E 22	0,80	0,92	0,90	0,20	10
E 23	0,59	0,35	0,90	0,02	30
E 24	0,76	0,88	0,14	0,99	65
E 25	0,42	0	0,17	0,02	300
E 26	0,77	0,03	0,07	0,15	50
E 27	0,87	0	0,04	0,11	14
E 28	0,68	0,02	0	0,09	14
E 29	0,85	0	0	0,11	> 400
E 30	0,78	0,93	0	0,50	40
E 31	0,89	0	0,01	0,02	37
E 32	0,79	0,04	0,01	0,07	33
E 33	0,69	0,61	0,99	0,03	10
E 34	0,87	0,04	0,01	0,09	> 400
E 35	0,64	0,99	0,95	0,09	5
E 36	0,87	0,10	0,06	0	145
E 37	0,88	0,04	0	0	120
E 38	0,74	0	+	0	14
E 39	0,83	0,05	0	0	10
E 40	0,96	0,85	0	0	165
E 41	0,92	0,74	0,37	1	20
E 42	0,88	0,39	0,81	1	65
E 43	0,71	0,72	0,82	0,07	145
E 44	0,88	0,71	0,59	0,07	50
E 45	0,73	0,71	0,72	0,14	190
E 46	0,53	0,98	0,72	0,14	20
E 47	0,84	0,88	0,99	0,73	20
E 48	0,87	0,57	0,93	0,58	30
E 49	0,76	0,69	0,01	0,73	30
E 50	0,79	0,96	0	0,91	15
E 51	0,79	0,99	0	1	30
E 52	0,65	0,96	0,63	1	15
E 53	0,52	0,83	0,65	1	250
E 54	0,57	0,27	0,20	0,88	400
E 55					> 400

Tabl. 1 a. — Coefficient d'activité valvaire de l'huître portugaise et LC₅₀ sur Phaeodactylum tricornutum pour les produits émulsionnants.

montré que dans ces conditions la population dénombrée est proportionnelle à la densité optique mesurée.

Agglomérants		Précipitants	
N° produit	Activité valvaire	N° produit	Activité valvaire
A 1	0,9	P 1	0,5
A 2	0,2	P 2	1
A 3	0,8	P 3	0,9
A 4	0,9	P 4	0,2
A 5	0,7	P 5	1
A 6	1	P 6	0,7
A 8	0,8	P 7	0,80
A 10	0,8	P 8	0,09
A 11	1	P 9	0,30
A 12	1	P 10	0,70
A 15	0,6	P 11	1
A 16	1	P 12	0,7
A 17	0,1	P 13	1
A 18	0,9	P 15	1
A 19	0,4	P 16	0,4
A 20	0,1	P 17	0,6
A 21	0,7		
A 23	0,7		

TABEAU 1 b. — Coefficient d'activité valvaire de l'huître portugaise en présence des produits agglomérants et précipitants; (2 mg/l.)

La courbe de croissance ainsi établie point par point, d'après les turbidités, montre que la phase exponentielle des cultures témoins s'achève vers le dixième jour. Une lecture faite le huitième jour sur l'ensemble des tubes permet donc de déterminer le retard de croissance dans les tubes contenant le polluant. Ce retard est exprimé en pourcentage par rapport à la croissance dans la culture témoin. La courbe donnant le retard de croissance par rapport à la concentration permet de déterminer la dose létale de croissance LC_{50} , c'est-à-dire celle qui réduit la croissance de 50 % par rapport aux témoins.

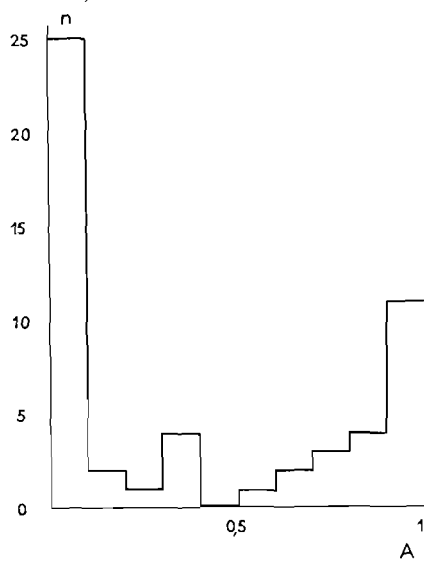


FIG. 3. — Répartition des émulsionnants en fonction de l'activité valvaire de l'huître à 10 p.p.m.; A) coefficient d'activité valvaire. n) nombre de produits.

à chaque concentration. Il apparaît (fig. 3, 4, 5) que les valeurs de A sont nettement réparties de part et d'autre de la valeur 0,5 avec un rassemblement dans les intervalles 0-0,2 pour les

IV. - Influence des produits antipétreole sur l'huître.

Les coefficients d'activité valvaire que nous avons déterminés sur l'huître portugaise en présence d'antipétreole sont transcrits dans le tableau 1 a et 1 b.

a) Emulsionnants.

Dans l'ensemble, les concentrations utilisées se sont avérées convenables pour mettre en évidence les différences d'action des produits. Elles ont entraîné la mort d'individus seulement dans 5 cas sur 51. Dans presque tous les autres cas les produits ont réduit l'activité valvaire de façon mesurable aux doses où ils étaient mis en œuvre.

Pour comparer les nocivités, nous avons classé les différents produits selon le taux de réduction de l'activité valvaire

produits nocifs et 0,7-1 pour les produits relativement peu nocifs. Si nous admettons que les produits qui réduisent l'activité valvaire de plus de 50 % sont indésirables, nous constatons que 32 produits entrent dans cette catégorie lorsqu'ils sont employés à la dose de 10 ppm, 38 lorsque, à cette dose de 10 ppm, s'ajoutent 10 ppm de pétrole, 40 si la dose est de 100 ppm. L'addition d'une partie égale de pétrole semble donc augmenter la toxicité relativement plus qu'une augmentation importante de la concentration de l'antipétrole. Le pétrole lui-même réduit sensiblement l'activité valvaire de l'huître. Avec les trois pétroles à l'égard desquels les mesures d'efficacité ont été faites par P. MICHEL, nous avons trouvé les valeurs suivantes : saharien 0,63, koweit 0,60, syrien 0,49 ; c'est-à-dire que le pétrole émulsionné à faible dose gêne la vie de l'huître. La gêne semble croître avec la viscosité du pétrole.

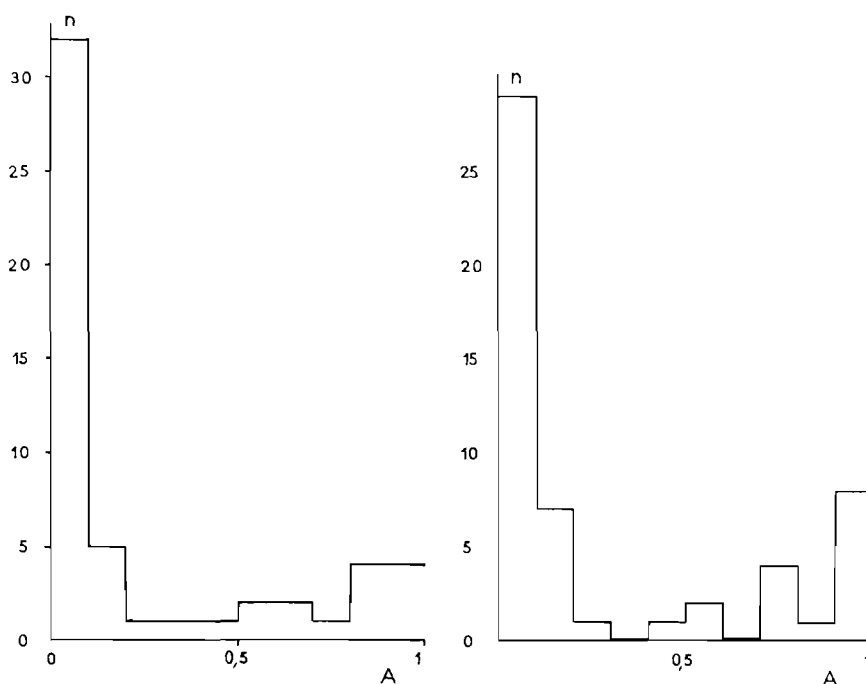


FIG. 4 et 5. -- Répartition des émulsionnants en fonction de l'activité valvaire de l'huître à 100 p.p.m. (à gauche) et à 10 p.p.m. + 10 p.p.m. de pétrole (à droite); A) coefficient d'activité valvaire, n) nombre de produits.

Si nous considérons les valeurs du coefficient d'activité valvaire des produits un à un, nous remarquons que dans 20 cas celle-ci décroît lorsque le produit est émulsionné avec du pétrole alors que dans 28 autres la variation est inverse. Lorsque le pétrole accroît la nocivité, les écarts sont en moyenne de 0,37 et atteignent au maximum 0,43, alors qu'ils sont au plus de 0,27 lorsque l'émulsion est moins toxique que le produit seul.

Il était intéressant d'examiner la nocivité des produits qui s'étaient révélés préalablement les plus efficaces. Nous avons donc établi des graphiques de l'activité valvaire par rapport au coefficient général d'efficacité tel que défini par P. MICHEL (fig. 6, 7, 8). La dispersion des points sur ces trois graphiques montre qu'il n'y a pas de relation évidente entre l'efficacité et l'activité valvaire: les produits nocifs ayant des coefficients d'efficacité répartis de 0,65 à 0,90 ainsi que ceux qui le sont moins. Il semble cependant que les produits dont la toxicité est plutôt diminuée en présence de pétrole soient en moyenne plus efficaces que ceux dont le pétrole augmente la nocivité. Ces figures montrent également que les produits à la fois efficaces et peu nocifs, c'est-à-dire ceux qui apparaissent dans l'angle supérieur droit, sont extrêmement

peu nombreux. Deux produits seulement ont un coefficient général d'efficacité supérieur à 0,8 allié à un coefficient d'activité valvaire compris entre 0,75 et 1.

On est en droit de supposer que la nocivité des produits antipétrole est due à un abaissement de la tension superficielle qui fausse les échanges normaux avec le milieu (respiration, absorption ou élimination des substances solubles) en modifiant la perméabilité des membranes.

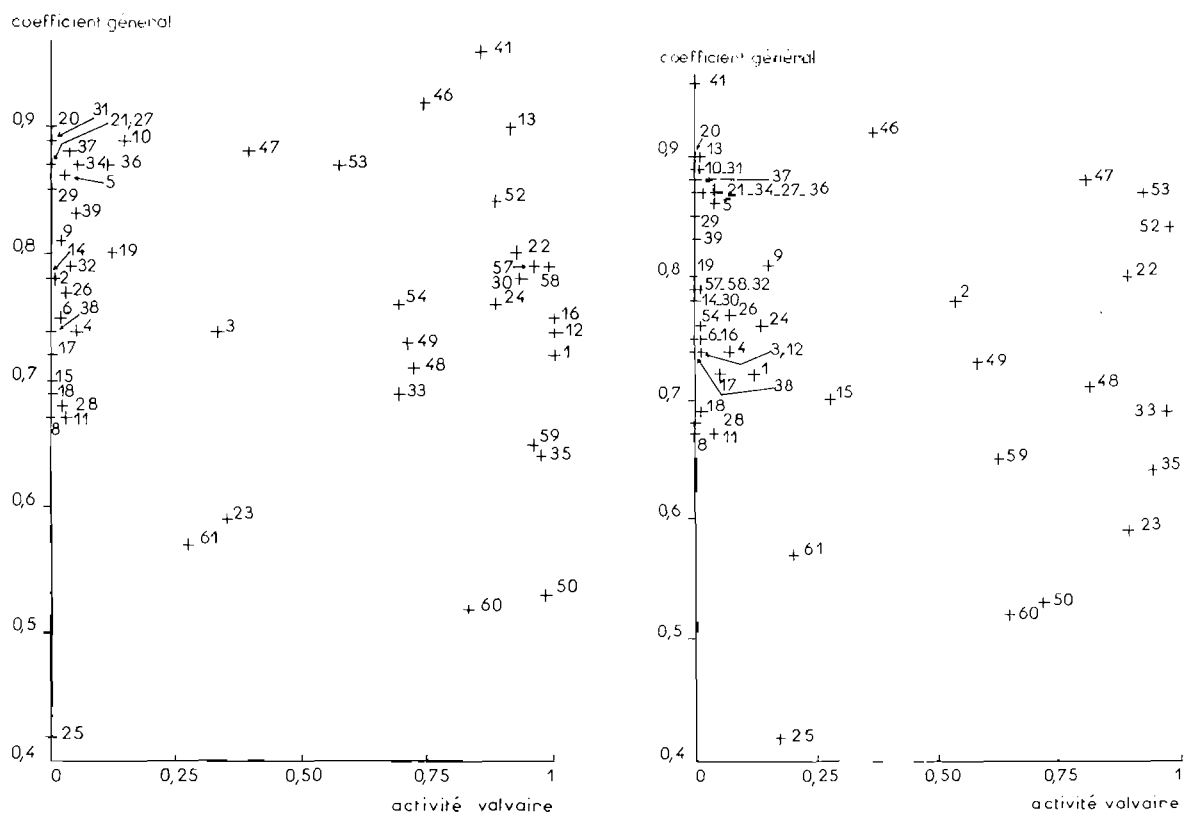


FIG. 6 et 7. — *Activité valvaire à 10 p.p.m. (à gauche) à 100 p.p.m. (à droite) en fonction du coefficient général.*

En fait, la figure 9, où sont reportés les coefficients d'activité valvaire en fonction de la tension superficielle des produits, ne fait apparaître aucune relation. Il est vrai que les produits examinés n'ont, pour la plupart, aucune parenté de composition entre eux, de sorte que leur propre tensioactivité est due, tantôt à un détergent, tantôt à un solvant, l'un et l'autre appartenant d'ailleurs à des familles chimiques extrêmement diverses. Une relation n'aurait donc pu apparaître que si la tension superficielle était un facteur déterminant en soi ; il ne semble pas que ce soit le cas. Ceci laisse supposer que la nocivité des produits est due essentiellement à leur action chimique.

En confirmation de ceci, on peut remarquer que les produits contenant des détergents anioniques ou des éthers de polyglycol, ont tous réduit, très sensiblement, le coefficient d'activité valvaire. Pour les treize produits contenant des détergents anioniques, les coefficients moyens d'activité valvaire sont respectivement de 0,32 - 0,22 - 0,16. Avec les produits contenant un éther de polyglycol, le coefficient d'activité valvaire, dans le cas le plus favorable, ne dépasse pas la valeur 0,11. Ces résultats confirment ceux qui ont déjà démontré l'action néfaste des déter-

gents dans le milieu aquatique, en particulier les résultats de MARCHETTI, FORET-MONTARDO. Un autre produit s'est avéré particulièrement toxique : le perchloréthylène. Le produit qui en contenait est l'un des rares qui ait provoqué la mort de l'huître à la concentration de 10 ppm.

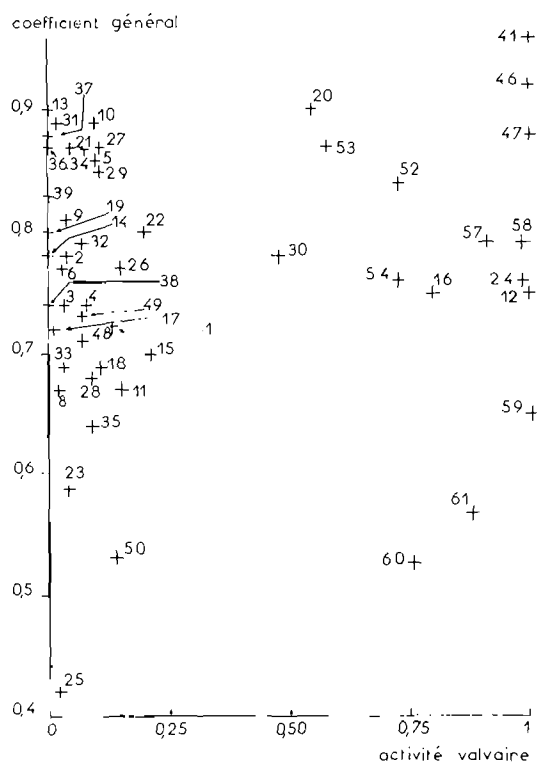


FIG. 8. — Activité valvaire à 10+10 p.p.m. en fonction du coefficient général.

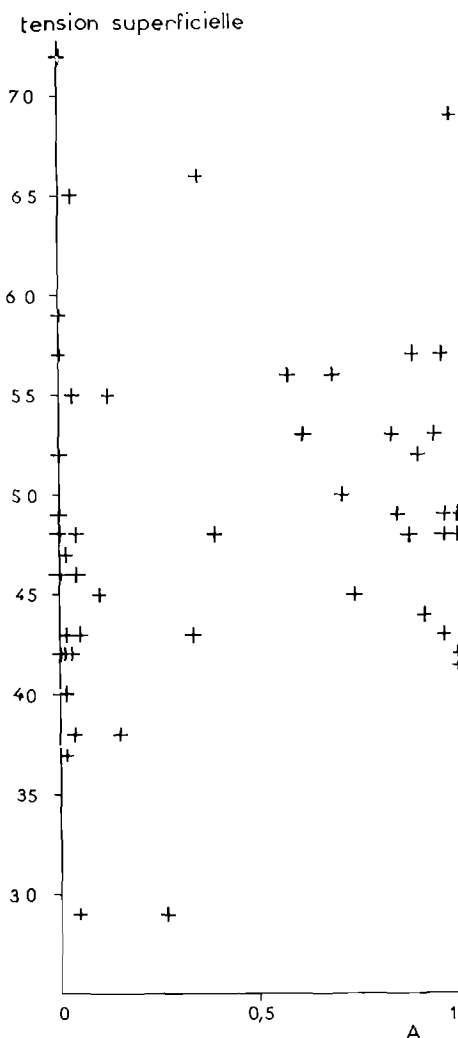


FIG. 9. — Activité valvaire à 10 p.p.m. en fonction de la tension superficielle.

b) Agglomérants et précipitants.

La plupart des produits pulvérulents sont formés à partir d'un support minéral revêtu d'une substance oléophile. Il y a donc lieu de craindre que le produit de traitement de la poudre diffusant dans l'eau de mer ait un effet néfaste sur l'habitat marin.

Le tableau 1 b donne les résultats des mesures du coefficient d'activité valvaire effectuées sur des dispersions contenant 2 g de produit agglomérant ou précipitant par litre d'eau de mer. La dispersion utilisée n'a entraîné la mort d'aucun individu. Le coefficient d'activité valvaire de la majorité des agglomérants est généralement compris entre 0,6 et 1 (fig. 10). Ceci dénote la faible toxicité de ces produits, nettement inférieure en tous cas à celle des émulsionnants examinés précédemment. La dispersion des résultats est beaucoup plus large : 0,2 à 1 dans le cas des précipitants.

Ici encore, il n'y a pas de relation entre efficacité des produits et coefficient d'activité valvaire (fig. 11 et 12). Si l'on admet que les produits réduisant l'activité valvaire de plus de moitié sont indésirables, 4 agglomérants et 5 précipitants se trouvent dans ce cas. Nous retrouvons parmi eux des produits contenant un éther de polyglycol ou du perchloréthylène.

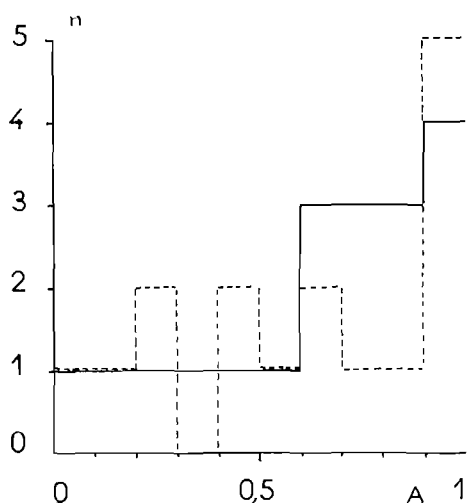


FIG. 10. — Répartition des agglomérants et précipitants en fonction de l'activité valvaire de l'huître : produits agglomérants (trait plein), produits précipitants (tireté); A) coefficient d'activité valvaire, n) nombre de produits.

L'analyse du diagramme d'enregistrement des mouvements des valves fait apparaître des irrégularités qui laissent supposer que l'huître est gênée par la remise en suspension du produit précipitant déposé sur le fond. Dans l'ensemble, les pulvérulents sont moins toxiques que les émulsionnants bien que les conditions d'utilisation ne puissent rendre leurs effets comparables.

V. - Influence des émulsionnants sur le phytoplancton.

Le tableau 1 a donné les valeurs de la LC_{50} enregistrées pour chaque produit émulsionnant. 10 % seulement des émulsionnants ont une LC_{50} supérieure à 400 ppm alors que dans 70 % des cas, elle est inférieure à 50 ppm (fig. 13).

Si l'on compare ces résultats à l'efficacité générale à l'égard des pétroles établie par ailleurs, il apparaît (fig. 14) que ces deux grandeurs varient en sens inverse. En effet, le calcul de la courbe de régression de la LC_{50} en fonction du coefficient général d'efficacité fait appa-

raître une droite de régression de pente négative avec un coefficient de régression de 0,001 (fig. 15).

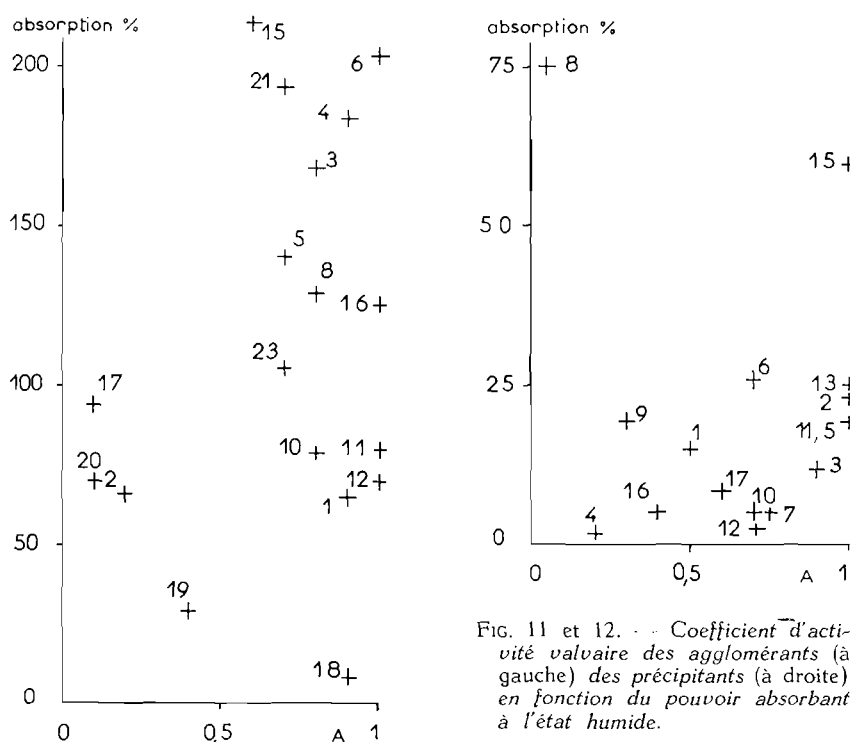


FIG. 11 et 12. - - Coefficient d'activité valvaire des agglomérants (à gauche) des précipitants (à droite) en fonction du pouvoir absorbant à l'état humide.

Avec les produits les plus nocifs, on observe un allongement de la phase de latence qui a

tendance à croître avec la nocivité (fig. 16, 17). Autrement dit, plus les produits sont efficaces plus ils sont nocifs à l'égard du phytoplancton.

Par analogie à ce qui a été trouvé sur l'huître, nous avons cherché à savoir si la nocivité était surtout due à une action physique ou à une action chimique. Il n'existe pas de relation apparente entre la LC_{50} et la tension superficielle, par contre les produits contenant des détergents anioniques sont nettement nocifs : leur LC_{50} s'étage entre 5 et 80 ppm avec une moyenne de 30 ppm.

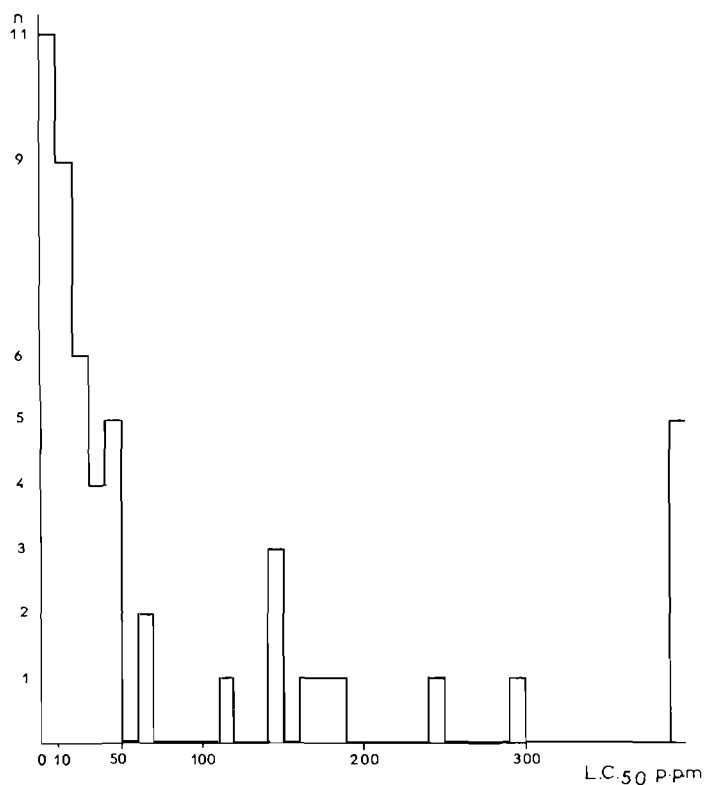


FIG. 13. — Répartition des émulsionnants en fonction de leur LC_{50} sur le phytoplancton.

L'éther de polyglycol paraît moins toxique pour le phytoplancton que pour l'huître : le perchloréthylène est, ici encore, nettement toxique (LC_{50} : 17 ppm). Le nombre de produits acceptables pour le phytoplancton est donc extrêmement réduit.

VI. - Choix des produits utilisables.

A l'issue de cette étude systématique, il convenait d'indiquer quels étaient les produits qui alliaient la plus grande efficacité à la plus faible toxicité.

a) *Emulsionnants.*

Il aurait été facile d'opposer au coefficient général d'efficacité une grandeur combinant les résultats des deux séries de tests que nous avons effectué puisque, pour des raisons économiques aussi bien que pour la protection du milieu marin, il y a intérêt à employer des produits qui ont un effet déterminé à la dose la plus faible possible. Mais nos tests portant, l'un sur la mesure d'un temps relatif à une réaction physiologique de l'individu en expérience, l'autre sur

une dose de produit ayant un effet déterminé, il n'y avait pas d'addition possible ; nous avons donc procédé par sélections successives. Un premier tri a été fait d'après l'action sur l'activité valvaire de l'huître, un deuxième d'après la LC_{50} des produits présélectionnés à l'égard de *Phaeodactylum tricornutum* BOHLIN.

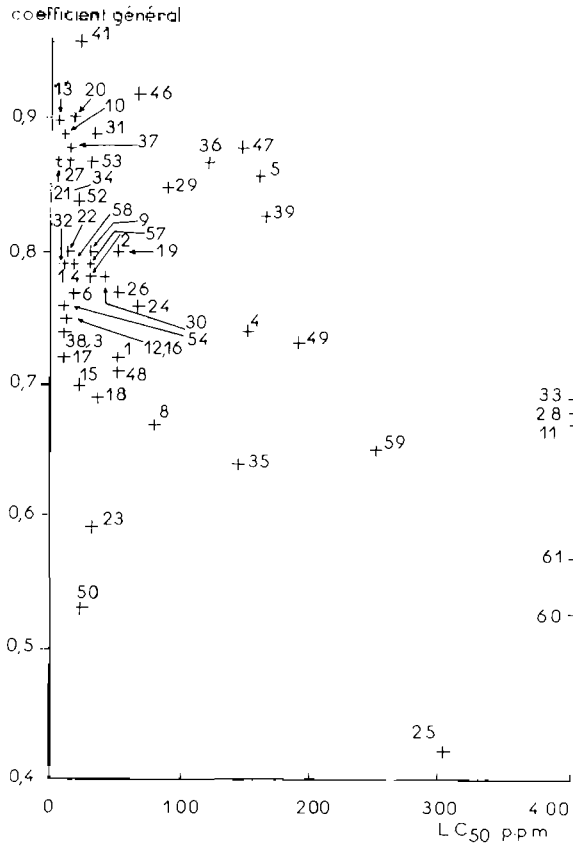


FIG. 14. — LC_{50} sur le phytoplancton en fonction du coefficient général d'efficacité.

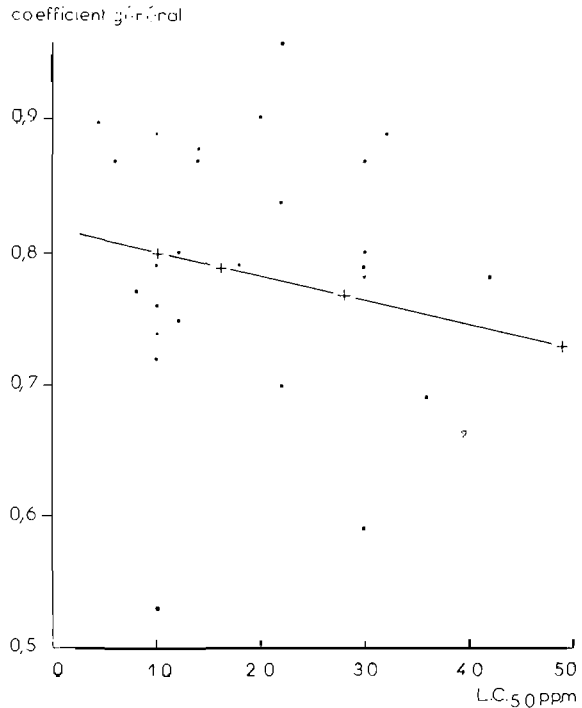


FIG. 15. — Droite de régression de la LC_{50} en fonction du coefficient général d'efficacité.

Nous référant aux résultats représentés sur les figures 6, 7 et 8, nous voyons que plusieurs produits, ayant un coefficient général d'efficacité supérieur à 0,75, ont un coefficient d'activité valvaire supérieur à 0,50. Nous avons retenu, préférentiellement dans l'ordre, d'abord ceux qui apparaissent dans les trois graphiques puis ceux trouvés dans deux graphiques, à savoir les produits E_{52} , E_{53} , E_{16} , E_{22} , E_{24} , E_{30} , E_{41} , E_{46} , E_{47} , E_{54} , E_{57} , E_{58} .

Malheureusement, certains des produits ainsi retenus sont nettement toxiques pour le phytoplancton et, par conséquent, sont à déconseiller (tabl. 2). Seul le produit E_{17} semble peu nocif sur le phytoplancton. Notons qu'une sélection faite en inversant l'ordre des triages aurait été encore plus restrictive. En effet, 14 produits ont une LC_{50} supérieure à 100 ppm, mais parmi eux, 4 seulement sont raisonnablement efficaces (coefficient général d'efficacité supérieur à 0,75) et un seul, le E_{17} , qui de plus influe relativement peu sur le coefficient d'activité valvaire à la dose de 100 ppm.

Ce bilan pourra paraître extrêmement sévère, il aurait cependant pu l'être davantage si nous avions poussé la recherche dans le sens des perturbations apportées aux fonctions physiologiques. Ainsi, lorsque nous nous sommes préoccupés de l'incidence de certains des produits sélectionnés sur la synthèse chlorophyllienne, chez *Phaeodactylum tricornutum* BOHLIN, il est apparu des perturbations indéniables. A des doses de 5 ppm, donc beaucoup plus faibles que leur LC_{50} , ils réduisent le taux de chlorophylle formé et parfois inversent les relations qui existent

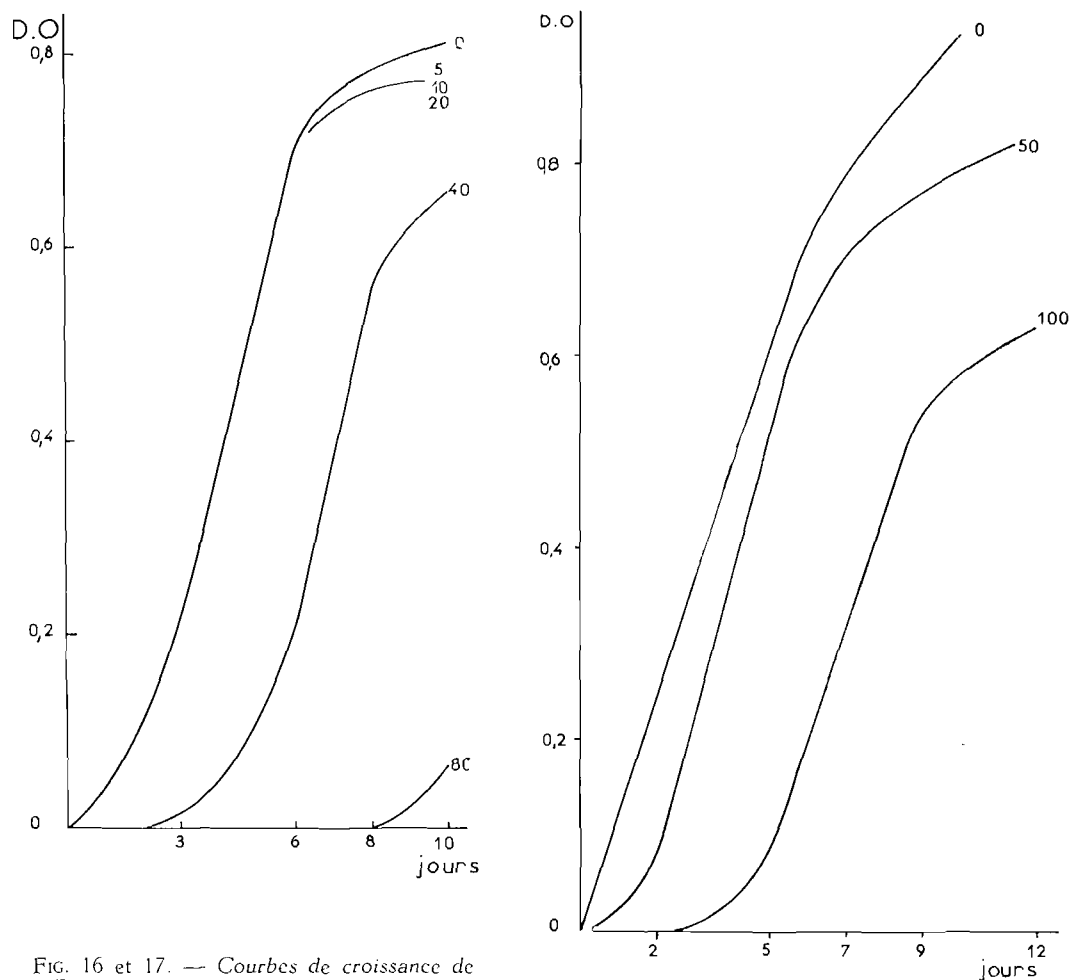


FIG. 16 et 17. — Courbes de croissance de *Phaeodactylum tricornutum* en présence de 0-5-10-20-40-80 ppm de produit E_{24} (à gauche) et de 0-50-100 ppm de produit E_{36} (à droite).

normalement entre les chlorophylles *a*, *b* et *c*. Cette action peut paraître mineure puisque le phytoplancton se développe facilement en grande abondance dès que les conditions redeviennent favorables; elle témoigne néanmoins d'une atteinte au milieu.

On peut se poser la question de savoir si l'intérêt est d'utiliser des produits qui disparaissent rapidement du milieu mais, dans ce cas, on court le risque d'un relargage du pétrole, ou au contraire, des produits qui maintiennent le pétrole assez longtemps en émulsions mais dont la persistance dans le milieu risque d'avoir davantage de répercussions sur la faune et la flore. A priori, il existe un optimum de persistance garantissant une dispersion du pétrole pendant un temps suffisant sans que le milieu demeure surchargé trop longtemps par des matières

organiques indésirables. Nous nous sommes préoccupés de savoir si les produits les plus persistants étaient les plus nocifs. La mesure de la persistance a été faite en déterminant la perte de D.C.O. en 14 jours (voir MICHEL). Cette perte est due pour la plus grande part à la disparition des solvants volatils. Il n'y a pas de relation apparente entre la persistance dans le

Emulsifiants référence	Coef. général d'efficacité	Activité valvaire de l'huître			LC ₅₀ ppm Phytoplancton
		10 ppm	100 ppm	10 + 10 ppm	
E ₁₆	0,75	1	0,01	0,80	10
E ₃₂	0,80	0,92	0,90	0,20	10
E ₂₄	0,76	0,88	0,14	0,99	65
E ₃₀	0,78	0,93	0	0,50	37
E ₄₁	0,96	0,85	0	1	20
E ₄₆	0,92	0,74	0,37	1	65
E ₄₇	0,88	0,39	0,81	1	145
E ₅₂	0,84	0,88	0,99	0,73	20
E ₅₃	0,87	0,57	0,93	0,58	30
E ₅₄	0,76	0,69	0,01	0,73	15
E ₅₇	0,79	0,96	0	0,91	30
E ₅₈	0,79	0,99	0	1	15

Agglomérants		Précipitants			
Pouvoir absorbant à l'état humide (%)	Activité valvaire	Pouvoir absorbant à l'état humide (%)	Activité valvaire		
A ₃	168	0,80	P ₉	23	1
A ₄	183	0,90	P ₆	26	0,7
A ₆	203	1	P ₁₃	25	1
A ₁₅	213	0,6	P ₁₅	60	1
A ₂₁	193	0,7			

TABLE. 2. — *Choix des produits utilisables*

milieu (faible perte de D.C.O.) et la toxicité (fig. 18, 19) aussi bien dans l'ensemble des produits que nous avons eus à examiner que dans la série que nous avons sélectionnée ci-dessus. Il pourrait en être autrement avec des produits de composition différente. Ainsi LACAZE a démontré que la toxicité du « Gamosol » était due surtout au solvant aromatique qu'il contient

b) *Agglomérants et précipitants.*

Partant des principes qui ont été exposés ci-dessus, nous avons retenu les agglomérants qui, ayant un coefficient d'activité valvaire supérieur à 0,5, ont à l'état humide un pouvoir absorbant supérieur à 150 %.

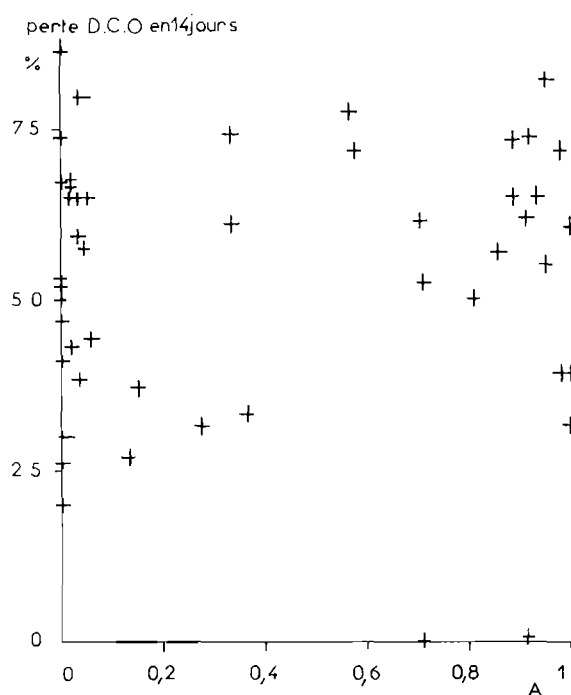


FIG. 18. — Coefficient d'activité valvaire de l'huître à 10 ppm en fonction de la perte de D.C.O. (%) au bout de 14 jours.

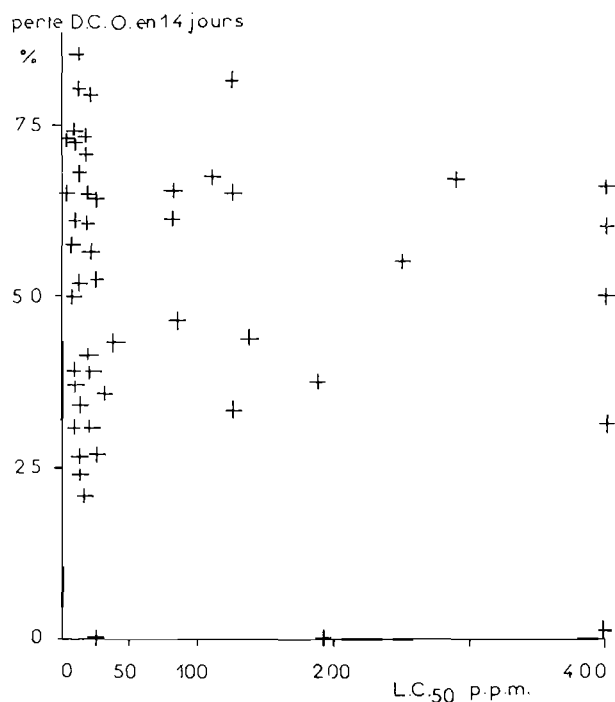


FIG. 19. — LC₅₀ de *Phaeodactylum tricornutum* en fonction de la perte de D.C.O. (%) au bout de 14 jours.

De même, ont été retenus les précipitants ayant un coefficient d'activité valvaire supérieur à 0,50 et un pouvoir absorbant supérieur à 20 % de leur poids à l'état humide. Ont été ainsi sélectionnés 5 agglomérants : A₁₅, A₆, A₂₁, A₄, A₃, et 4 précipitants : P₁₅, P₆, P₁₃, P₂.

On se souviendra que d'après leur composition même, dont nous avons eu le plus souvent connaissance et d'après les observations faites, ces produits sont en général peu toxiques.

Il est bien évident que la sélection qui vient d'être faite repose sur des bases relativement étroites, mais il est presque certain qu'un produit qui perturbe la vie de l'huître ou d'une diatomée nuise également à d'autres espèces marines et inversement. L'absence de nocivité à l'égard de deux espèces seulement ne peut être considérée comme un brevet d'innocuité. Aussi, des tests utilisant d'autres espèces représentatives des maillons essentiels d'une chaîne alimentaire ont-ils été effectués sur les produits qui apparaissent ici les meilleurs ; c'est l'objet du travail de P. MAGGI.

BIBLIOGRAPHIE

- ALJAKRINSKAYA (I.O.), 1966. — Sur le comportement et l'aptitude à la filtration de la moule à la marée noire *Mytilus galloprovincialis* vivant en eau polluée par le pétrole. — *Zool. Zh.*, **14**, n° 7: 998-1003.
- BELLAN (G.), CARUELLE (F.), FORET-MONTARDO (P.), KAIM-MALKA (R.A.) et LEUNG TACKI (K.), 1969. — Contribution à l'étude de différents facteurs physicochimiques polluants sur les organismes marins. I — Action des détergents sur la polychète *Scolecopsis fuliginosa*. — *Téthys*, **1**, n° 2: 367-374.
- BELLAN (G.), FORET (J.-P.), FORET-MONTARDO (P.) et KAIM-MALKA (R.A.), 1970. — Action, *in vitro*, de détergents sur quelques espèces marines. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- BEYNON (L.R.), 1970. — Oil spill dispersants. — Workshop on oil spill clean-up, 16 octobre 1970.
- BLUMER (M.), 1970. — Oil contamination and the living resources of the sea. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- CORNER (E.D.S.), SOUTHWARD (A.J.) et SOUTHWARD (E.C.), 1968. — Toxicity of oil-spill removers (« Détergents ») to marine life an assessment using the intertidal barnacle *Elminius modestus*. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **48**: 29-47.
- DOUGLAS (P.W.), 1968. — Temporary absorption on a substrate of an oil-spill remover: tests with larvae of *Sabellaria spinulosa*. — *J. mar. biol. Assoc. U.K.*, **48**: 183-186.
- FORET-MONTARDO (P.), 1970. — Etude de l'action des produits de base, entrant dans la composition des détergents issus de la pétrolochimie, vis-à-vis de quelques espèces animales marines. — Thèse Faculté de Marseille, 30 juin 1970.
- GRIFFITH (D. de G.), 1970. — Toxicity of crude oil and détergents to two species of edible molluscs under artificiel tidal conditions. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- HALSBAND (E.), 1970. — Etudes physiologiques de la recherche sur le degré de toxicité de différentes substances contenues en eau de mer. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- KUHNHOLD (W.W.), 1970. — The influence of crude oils on fish fry. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- LACAZE (J.C.), 1967. — Etude de la croissance d'une algue phytoplanctonique en présence d'un détergent utilisé pour la destruction des nappes de pétrole en mer. — *C.R. Acad. Sci.*, Paris **265**: 1489-1491.
- 1969. — Effets d'une pollution « Torrey-Canyon » sur l'algue unicellulaire marine *Phaeodactylum tricornutum*. — *Rev. int. Océanogr. méd.* **13-14**: 157.
- MAGGI (P.), 1972. — Toxicité relative de sept produits émulsionnants antipétrole. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **36** (1), p. 121-124.
- MARCHETTI (R.), 1965. — Revue critique des effets des détergents synthétiques sur la vie aquatique. — *Stud. Rev. Fish. council. Medit.* **26**.
- MICHEL (P.), 1972. — Efficacité des produits antipétrole. — *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, **36** (1) p. 85-102.
- MIRONOV (O.G.), 1970. — The effect of oil pollution on flora and fauna of the black sea. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- MITROVIC (V.V.), 1970. — Sublethal effects of pollutants on fish. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- NELSON-SMITH (A), 1970. — Effects of oil on marine plants and animals. — Seminar of water pollution by oil, Aviemore, 4-8 mai 1970.
- NITTA (T.), ARAKAWA (K.) et OKUBO (K), 1965. — Etude sur les odeurs désagréables dans le poisson causées par les résidus de l'industrie pétrolière. — *Bull. Tokai reg. Fish. Res. Lab.*, **42**: 23-37.
- NORTH (W.J.), NEUSHUL (M. Jr.) et CLENDENNING (K.A.), 1965. — Successive biological changes observed in marine cove exposed to a large spillage of mineral oil. — *Symp. Poll. Mar. Micro-org. Prod. pétrol.*, Monaco, 1964: 335-354.
- PORTMANN (J.E.), 1969. — A summary of the results of toxicity tests with 36 oil-dispersing mixtures. — *Cons. int. Explor. Mer*, Fisheries improvement committee C.M. 1969/E: 9.
- 1970. — Toxicity-testing with particular reference to oil-removing materials and heavy metals. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- PRIOU (M.L.) et MALLET (L.), 1967. — Les pollutions par les produits pétroliers et leurs conséquences sur le milieu biologique marin. — Congr. Assoc. franç. avancement des Sciences, Bordeaux, juillet 1967.
- RAVENNA UKELES, 1962. — Growth of pure culture of marine phytoplankton in the presence of toxicants. — *Appl. Microbiol.*, **10**: 532-537.
- SMITH (J.E.), 1968. — « Torrey Canyon » pollution and marine life. — Cambridge University press: 196 pages
- TARZWELL (C.M.), 1970. — Toxicity of oil and oil dispersants mixtures to aquatic life. — Seminar of water pollution by oil, Aviemore, 4-8 mai 1970.
- WILSON (K.W.), 1970. — The toxicity of oil-spill dispersants to the embryos and larvae of some marine fish. — *F.A.O. techn. conf. on marine pollution*, Rome, 9-18 décembre 1970.
- ZOBELL (C.E.), 1962. — The occurrence, effects, and fate oil polluting the sea. — *Intern. conf. on water pollution research*, Londres, septembre 1962.