

**ETUDES PRELIMINAIRES SUR LA SENSIBILITE
D'ORGANISMES PLANCTONIQUES MARINS
VIS A VIS DE
DEUX INSECTICIDES ET D'UN PESTICIDE**



INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE DES PÊCHES MARITIMES

RUE DE L'ILE D'YEU - B.P. 1049
44037 NANTES CEDEX - FRANCE
TELEX: 711 196 F

Les "Rapports techniques ISTPM" sont édités par l'Institut scientifique et technique des Pêches maritimes. Ces rapports concernent les techniques et le développement des pêches, et les sciences océaniques en général. Ils intéressent la communauté scientifique et les professionnels, sans toutefois se prêter à une publication en version imprimée dans une revue scientifique (résultats préliminaires, sujets trop restreints, nombreux tableaux...). Les "Rapports techniques ISTPM" font l'objet d'un dépôt légal à la Bibliothèque nationale et sont répertoriés dans le Bulletin signalétique du C.N.R.S. Il s'agit donc d'une publication à part entière mais non périodique.

Directeur de la Publication: A. Pambrun - Vincent
Dépôt légal: octobre 1983

ETUDES PRELIMINAIRES SUR LA SENSIBILITE
D'ORGANISMES PLANCTONIQUES MARINS VIS-A-VIS
DE DEUX INSECTICIDES ET D'UN HERBICIDE

*par C. MARCAILLOU LE BAUT
M. BARDOUIL, G. BOCQUENÉ, L. LE DÉAN et P. TRUQUET*

°
° °

S O M M A I R E

AVANT - PROPOS	3
I - INTRODUCTION	4
II - ESPECES EXPERIMENTEES	5
A - PHYTOPLANCTON	5
1°) Diatomées	5
2°) Phytoflagellés	8
B - ZOOPLANCTON	9
III - METHODOLOGIE	11
A - PHYTOPLANCTON	11
B - ZOOPLANCTON	11
IV - PESTICIDES EXPERIMENTES	12
A - ABATE 500 E	12
B - AGRI 2001	13
C - SPICA 103 TDA	14
V - RESULTATS	15
A - ABATE 500 E	15
1°) Action sur le phytoplancton	15
2°) Action sur le zooplancton	15
3°) Conclusion sur l'action de l'Abate	20
B - AGRI 2001	20
1°) Action sur le phytoplancton	20
2°) Action sur le zooplancton	23
3°) Conclusion sur l'action de l'Agri 2001	23
C - SPICA 103 TDA	26
1°) Action sur le phytoplancton	26
2°) Action sur le zooplancton	26
3°) Conclusion sur l'action du Spica 103 TDA	26
VI - CONCLUSION	30
BIBLIOGRAPHIE	32

A V A N T - P R O P O S

Ce travail est la synthèse préliminaire de tests toxicologiques effectués sur trois pesticides,

Cette récapitulation n'aurait pu être réalisée sans la participation de stagiaires, Melles V. PERLES et N. LE BOULICOT et de MM. M. FALCHIER et G. GATY qui ont contribué notablement à cette étude, encadrés par le personnel du laboratoire.

Les résultats obtenus ne peuvent être considérés comme définitifs. La nécessité de répondre rapidement aux besoins ne nous a pas permis de les affiner et/ou de les compléter ; par exemple nous n'avons pas toujours déterminé la dose létale pour 50 % des individus. Cependant, ils donnent des indications utiles sur les ordres de grandeur des relations doses-effets de produits dont la toxicité pour l'environnement marin est encore mal connue.

Par ailleurs des recherches sur les méthodologies, la culture ou l'élevage des espèces testées, le temps d'exposition, etc. sont à poursuivre.

Les travaux présentés ici ne sont pas seulement des réponses aux préoccupations des professionnels ; ils s'inscrivent également dans un vaste programme dont l'objectif est l'évaluation des risques encourus par le milieu marin en cas de rejets de produits chimiques.

I - INTRODUCTION

De nombreux produits chimiques sont de plus en plus répandus dans l'environnement que ce soit :

pour la protection des cultures ou des zones boisées contre les parasites, les prédateurs et/ou les compétiteurs,

pour la valorisation de zones touristiques : démoustication, desherbage ...

pour des actions ponctuelles d'entretien, de nettoyage ...

Bien qu'un effort notable tende à augmenter leur spécificité, ces produits ne sont pas sans innocuité sur les êtres vivants. Tous les nouveaux pesticides à usage agricole sont soumis à l'agrément du Ministère de l'Agriculture avant leur épandage ; leur impact sur le milieu terrestre est donc connu. Par contre en cas de déversement dans le milieu marin, la réglementation est inexistante et devant les protestations des professionnels de la mer les Pouvoirs Publics sont souvent désarmés lorsqu'ils ont à émettre un avis.

Pour répondre à cette demande formulée aussi par les industriels, il est apparu nécessaire de se doter de moyens pour évaluer les risques encourus par la flore et la faune marine lorsque ces produits sont entraînés en zone littorale par les eaux de ruissellement, soit accidentellement soit par infiltration.

L'I.S.T.P.M. s'est donc orienté dans un premier temps vers une mise au point de tests de toxicité aiguë, relativement facile de mise en oeuvre et apportant une réponse en quelques jours. Ces tests ne donnent pas entièrement satisfaction pour des raisons que nous soulèverons par la suite mais ils permettent de définir une base chiffrée pour fixer une dose à ne pas dépasser.

Par exemple nous avons été plusieurs fois sollicités pour exprimer un avis sur la toxicité de l'Abate et du Fénitrothion. Ce sont deux organo-phosphorés, utilisés dans la lutte contre les moustiques, qui ont remplacé les organochlorés, réputés dangereux, de moins en moins utilisés voire interdits. Suite à cette étude comparative, la préférence a été donnée à l'Abate.

Dans ce travail nous avons voulu faire le point sur les connaissances acquises dans ce domaine : mise au point de la méthodologie, choix des espèces à tester, toxicité relative suivant la nature du produit, tout en répondant aux préoccupations des professionnels de la mer par un avis pertinent. A cette fin nous avons choisi trois toxiques qui ont été particulièrement bien étudiés en laboratoire et qui peuvent être nocifs pour d'autres organismes que ceux contre lesquels ils sont utilisés. Ce sont :

- l'Abate : insecticide pour lequel nous avons déjà des données mais qui a fait l'objet d'un complément d'étude (P. MAGGI, 1973 ; rapport interne, 1981),
- l'Agri 2001 : insecticide biodégradable (rapport interne, 1981),
- le Spica 103 TDA : herbicide, le plus rémanent de tous ceux que nous avons étudié jusqu'ici (rapport interne, 1981).

Pour tester ces trois produits le choix des espèces doit tenir compte de diverses contraintes concernant leur maintien en vie dans de bonnes conditions, leur représentativité et leurs exigences d'élevage afin d'obtenir des organismes ayant une sensibilité constante permettant des tests reproductibles.

II - ESPECES EXPERIMENTEES

A - PHYTOPLANCTON

L'utilisation d'espèces phytoplanctoniques pour les tests de toxicité présente un intérêt à plusieurs niveaux.

L'activité photosynthétique est souvent visée par les herbicides, donc l'utilité d'un test sur le phytoplancton autotrophe est évidente.

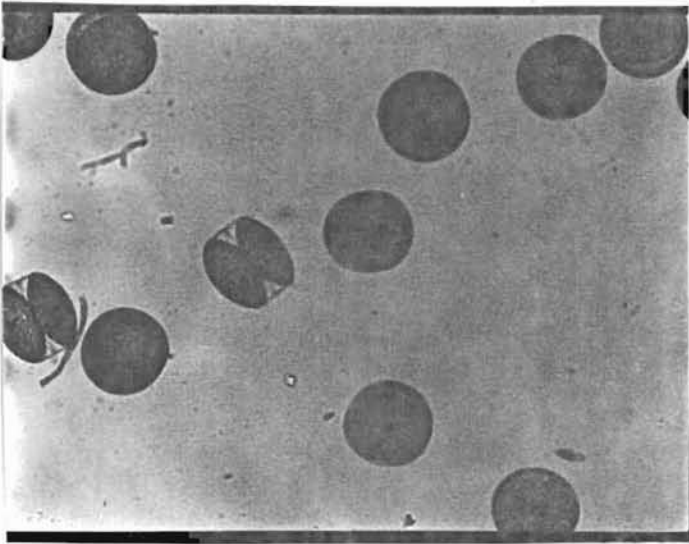
Le phytoplancton est le premier maillon de la chaîne, c'est pourquoi lorsque les produits rejetés sont rémanents, ce phytoplancton constitue la première étape d'une bioaccumulation qui va croissant jusqu'aux êtres vivants supérieurs. Il permet dans l'avenir de recréer une chaîne alimentaire en laboratoire et d'étudier des effets à long terme. De plus, il est assujetté aux déplacements des masses d'eau donc exposé à toutes les perturbations du milieu, ce qui peut entraîner une variation qualitative ou quantitative de ces microorganismes avec des conséquences sur les herbivores qui s'en nourrissent.

Parmi les nombreuses espèces communes sur nos côtes, celles qui se cultivent facilement en laboratoire sont d'abord sélectionnées pour les tests. Puis le choix se porte sur les espèces les plus représentatives du milieu considéré. En général, nous testons au moins deux espèces appartenant à des familles différentes : ici, les diatomées et les flagellés.

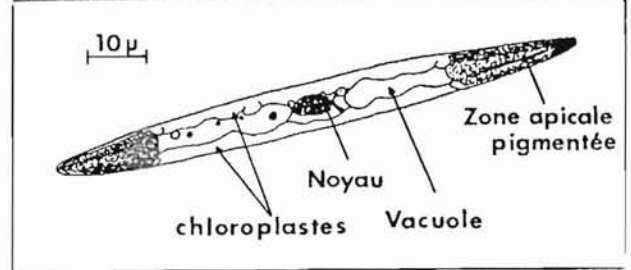
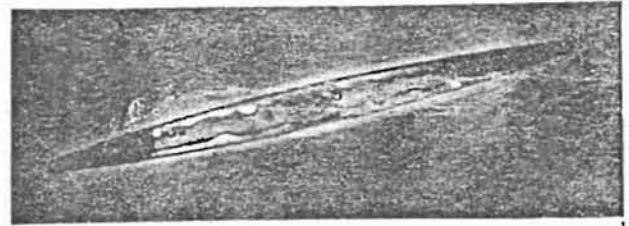
1°) Diatomées

Ce sont des organismes unicellulaires qui vivent à l'état planctonique, benthique, ou fixé sur des supports divers, ils représentent la majorité du phytoplancton.

La cellule est entourée de deux valves silicopeptiques souvent finement ornementées qui s'emboîtent l'une dans l'autre. De nombreuses espèces se présentent en colonies de forme variable, les plus communes étant les colonies en chaînes (fig. 1 et 2).



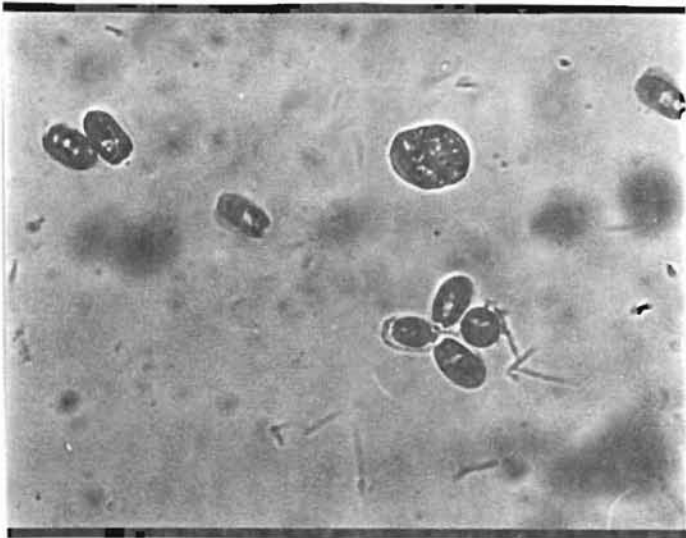
Coscinodiscus granii (X 100)



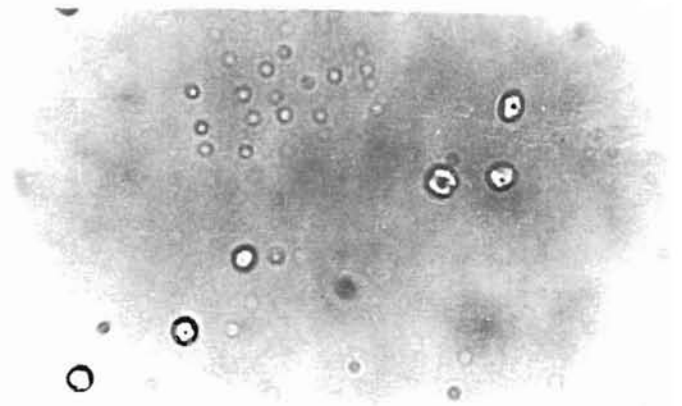
(photo J.-M. ROBERT)

Navicula ostrearia

DIATOMÉES



Tetraselmis suecica (X 700)



Pavlova lutheri (X 600)

FLAGELLÉS

Figure 1 : Algues unicellulaires expérimentées.

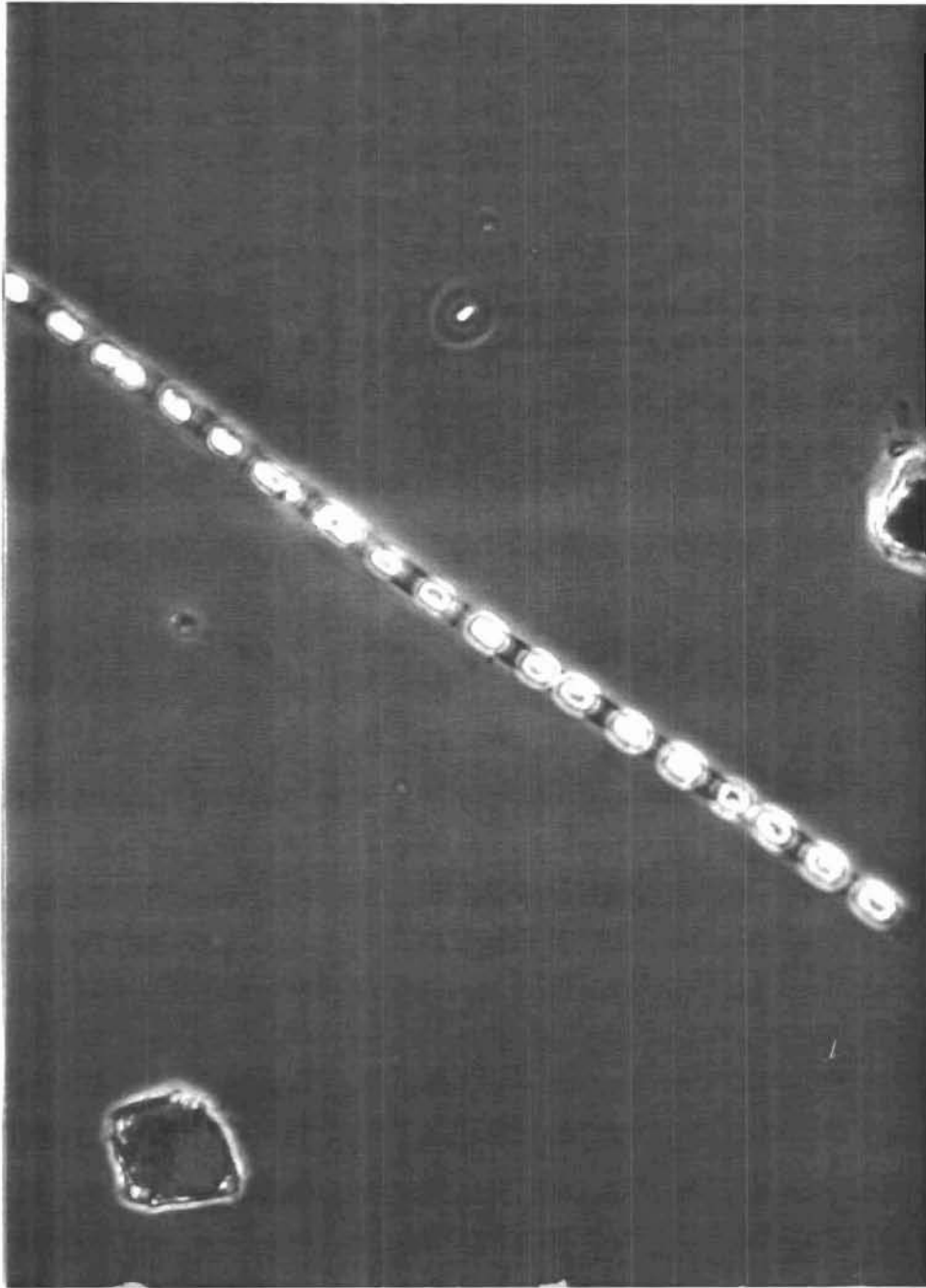


Figure 2 : *Skeletonema costatum* : diatomée coloniale expérimentée.

(X 500)

Navicula ostrearia

C'est une diatomée fusiforme dont la biologie a été très étudiée (ROBERT, 1973, 1974, 1975, 1976). Sa biologie évolue en fonction de son cycle dans les claires ostréicoles : elle mène d'abord une vie planctonique, puis la chlorophylle dégénère pour donner un pigment appelé marennine qui, une fois libéré dans l'eau, est responsable du verdissement des huîtres. La navicule pourvue de marennine devient benthique, accumule des graisses et vient dégénérer en surface.

L'importance économique du verdissement qui donne de la plus value à l'huître, justifie l'utilisation de *N. ostrearia* pour des tests de toxicité avec des produits susceptibles d'être entraînés dans les zones ostréicoles.

Skeletonema costatum

Les valves de cette espèce ($\varnothing = 8$ à 15μ) sont discoïdes et émettent de fins prolongements siliceux par lesquels les cellules se rattachent en formant ainsi de longues chaînes. C'est une diatomée pélagique très commune sur les côtes de la mer du Nord, en Manche, en mer Baltique. Son ubiquité en fait une espèce de choix pour la normalisation de tests au niveau international.

Coscinodiscus granii

Les valves, vues de dessus, forment un disque finement orné par une perforation rayonnante. C'est une grosse diatomée néritique ($\varnothing = 100$ à 120μ) que l'on trouve principalement sur les côtes nord-ouest de l'Europe : Manche, mer du Nord, mer d'Irlande.

2°) Phytoflagellés

Ce groupe possède moins d'espèces que les diatomées et leur biologie est un peu différente. Ce sont des formes libres, douées de mouvement grâce à un ou plusieurs flagelles ; certaines espèces sont prédatrices ce qui les place à la frontière entre les protophytes et les protozoaires (fig. 1).

Tetraselmis (Platymonas) suecica (Chlorophycées)

La cellule qui mesure environ 10μ est ovoïde avec, en position apicale 4 flagelles égaux, légèrement plus courts que le corps cellulaire. Elle est très riche en chlorophylle et possède la propriété de former des kystes. Elle est connue pour avoir une bonne valeur nutritive pour les jeunes huîtres.

Pavlova (Monochrysis) lutheri (Haptophycées)

De petite taille, de l'ordre de 5 à 6μ ces cellules sont facilement retenues et ingérées par les stades larvaires. Cette espèce est fréquemment utilisée dans les élevages de larves de crustacés et de mollusques (GREEN, 1975).

B - ZOOPLANCTON

Les tests létaux ou sublétaux sur ces organismes peuvent fournir des informations sur les risques potentiels encourus par les écosystèmes marins car les effets nocifs de certaines substances chimiques sur le zooplancton affectent un maillon important de la chaîne alimentaire. Cependant la validité de ces tests est assujettie à des contraintes sévères :

- choix d'une espèce sensible représentative du milieu,
- disponibilité d'un grand nombre d'individus, génétiquement définis et dans un état physiologique identique,
- maîtrise de l'élevage et manipulation aisée,
- disponibilité seulement à une certaine période de l'année.

Deux espèces de crustacés répondent à ces conditions et le phénomène de la mue chez ces organismes qui les rend plus fragiles à ce moment de leur croissance, permet d'appréhender les effets sublétaux (fig. 3).

Larve de la crevette rose : *Palaemon serratus*

La crevette rose adulte est une espèce côtière qui est pêchée tout le long du littoral français : des eaux méditerranéennes à l'Atlantique nord tempéré. Les femelles grainées sont capturées surtout en hiver, principalement à l'aide de casiers. La ponte fournit entre 900 et 5 000 larves, ce qui représente un lot statistiquement représentatif. Du 1er au 5e stade, soit durant les 15 premiers jours du développement, les mues sont synchrones, au nombre de 4 ou 5. Les larves sont des prédateurs dès leur premier stade, au laboratoire elles sont nourries avec des nauplii d'artémies (LASSUS et MAGGI, 1980).

Copépode harpacticoïde : *Tigriopus brevicornis*

Ce copépode appartient à une espèce cosmopolite qui vit en eau peu profonde dans les algues ou sur des fonds sableux. Nageur actif, on le trouve en grand nombre dans le plancton côtier ou dans les mares intertidales où il peut supporter les variations importantes de salinité et de température. Son développement est très proche de celui de *Tigriopus fulvus* dont la biologie est comparable et a été très étudiée par J. H. FRASER (1936) ; il comprend quatre stades naupliens et cinq stades copépodites. L'adulte est jaune-foncé à orangé et présente un dimorphisme sexuel très prononcé, non seulement au niveau de la taille (le mâle mesurant de 0,8 à 1 mm, la femelle de 1 à 1,2 mm) mais également au niveau des cinquièmes pattes nageuses et des antennes qui ont une forme de pince copulatrice chez le mâle. La femelle forme un sac ovigère contenant de 20 à 90 oeufs qui vont éclore au bout de 3 à 4 jours. Un nouveau sac fertile est élaboré, généralement dans les 24 heures qui suivent l'éclosion, sans qu'intervienne une nouvelle copulation : une femelle peut ainsi produire de 10 à 20 sacs ovigères.

L'adulte ne mue pas, il est adapté à des variations importantes de milieu, c'est un crustacé résistant, mais son cycle de reproduction étant très court (21 jours environ) on peut tester des produits sur une génération et donc expérimenter sur des stades fragiles (stades larvaires).



Larve au stade 3 de *Palaemon serratus* (X 40)



Tigriopus brevicornis (femelle) (X 80)

Figure 3 : Micro-crustacés expérimentés

III - METHODOLOGIE

Précisons que les pesticides testés ici étaient tous sous forme liquide avec une densité très proche de 1.

Les concentrations sont exprimées en microlitres par litre (ppm) de la formulation diluée dans l'eau de mer, sauf pour l'Abate pour lequel les concentrations sont exprimées par rapport à la matière active.

A - PHYTOPLANCTON

La méthode expérimentale a déjà été décrite en détail dans des travaux précédents (LASSUS et DEVINEAU, 1981). Nous en rappellerons l'essentiel.

La croissance des cultures d'algue est suivie dans des ballons de 10 l contenant :

- 6 l d'eau de mer filtrée,
- 12 ml de milieu nutritif de Provasoli,
- 1 barreau aimanté,
- 1 tige d'aération,
- 1 siphon de silicone.

Après stérilisation, l'inoculum et le produit testé aux concentrations étudiées, sont introduits dans les ballons en atmosphère stérile. Les ballons sont ensuite stockés dans une pièce thermostatée à 16° C, reliés à un système d'aération continue et soumis à un rythme d'éclairement nycthéral.

Les prélèvements sont effectués quotidiennement par siphonnage, le volume de prélèvement est négligeable (\approx 80 ml) par rapport au volume total (6 l). La concentration cellulaire est estimée soit par un compteur de particules soit par comptage au microscope sur cellule de Malassez ou de Nageotte selon que les cellules algales sont libres ou en chaînes.

Les souches utilisées ici proviennent principalement de l'algothèque de Plymouth (*Skeletonema*, *Tetraselmis*, *Pavlova*) sauf *Coscinodiscus granii* qui nous a été fourni par le laboratoire d'Heligoland et *Navicula ostrearia* qui est cultivée au Laboratoire de Biologie Marine de Nantes. Elles sont maintenues en culture monospécifique par des repiquages réguliers effectués dans des conditions stériles.

B - ZOOPLANCTON

La méthodologie a aussi été décrite très précisément dans des travaux précédents (LASSUS et MAGGI, 1980 ; FALCHIER *et al.*, 1982). Elle diffère selon que l'on travaille sur des larves de crevettes ou des copépodes.

Larve de crevette

Les femelles grainées pêchées au casier sont rapportées au laboratoire et mises à incuber isolément dans de l'eau de mer aérée, à température constante (20° C).

Dès l'éclosion, les larves au stade 1 sont réparties individuellement dans des cristallisoirs contenant 10 ml environ d'eau de mer avec ou non le produit à tester. La nourriture est constituée de nauplii d'Artémies.

Chaque jour la mortalité, la mue larvaire et les observations morphologiques sont notées.

Copépodes

Des lots de 100 femelles ovigères sont isolés dans des cristallisoirs d'environ 4 l. Le milieu d'élevage est constitué de 2 litres d'eau de mer contenant un mélange de deux algues de taille différente correspondant à la demande nutritive des stades de croissance successif *Favlova Lutheri* (1 200 000 cellules par ml) et *Tetraselmis suecica* (600 000 cellules par ml) dans lequel est dilué le produit à tester aux concentrations étudiées pour les essais.

Les cristallisoirs sont stockés à 20° C et maintenus sous aération. L'évolution de la population est suivie en comptant sélectivement les stades : adulte, copépodite, nauplius dans un échantillon de 100 ml prélevé tous les trois jours. Le volume de milieu prélevé (contenant nourriture et produit à tester) est remplacé après chaque prélèvement.

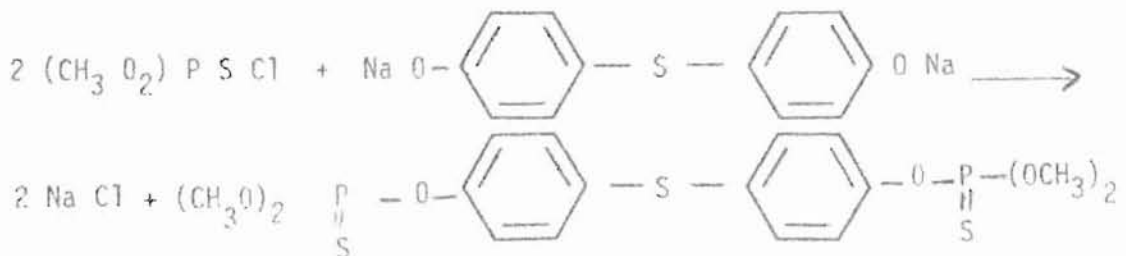
IV - PESTICIDES EXPERIMENTES

A - AGATE 500 E

Le "temephor", commercialisé sous le nom d'Abate 500 E est un organophosphoré d'origine américaine utilisé pour la destruction des larves de moustiques. Il est commercialisé en solution de 1, 10, 50 % de matière active. Pour le traitement des gîtes larvaires de moustiques on l'utilise à raison de 50 g par hectare soit sur le terrain 0,02 ppm (environ 0,8 ‰ de matière active d'Abate).

Propriétés chimiques

Il se présente à l'état pur sous forme soluble dans la plupart des solvants organiques. Il n'est hydrolysé qu'en solution de pH très élevé (> 11). La synthèse se fait de la manière suivante :



bis-thiophosphate de tetra -(O)- méthyle et de
0,0' - thiodiparaphénylène

Mode d'action et toxicité

Il agit sur les larves de moustiques en inhibant la cholinestérase mais l'intensité de son action est variable. Il est décrit comme étant peu dangereux pour les poissons, la faune et la flore aquatique. Il ne s'accumule pas dans l'organisme des vertébrés et se dégrade en produits non toxiques pour l'homme ou l'animal ; la dose létale pour le rat, par ingestion, est de 8 600 mg/kg.

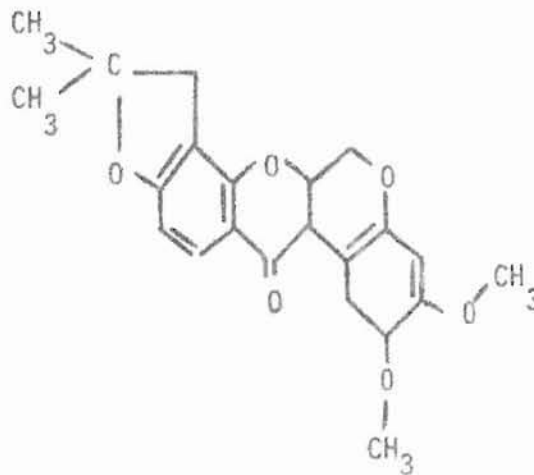
B - AGRI 2001

Le principe actif de ce produit, surtout utilisé comme insecticide en agriculture, est la roténone, résine d'origine végétale extraite à partir de certaines légumineuses (derris, lonchocarpus ...) tropicales ou sub-tropicales qui a la propriété d'être toxique pour les animaux à sang froid.

Ce produit est commercialisé sous plusieurs formes (poudre, solution, aérosol ...) correspondant à des utilisations de plus en plus diversifiées : traitement des parasitoses humaines ou animales, désinfection des locaux, insecticide domestique. Il est même utilisé en aquaculture pour éliminer les prédateurs ou commensaux des bassins d'élevage.

Propriétés chimiques

L'Agri 2001 contient 6,6 % de roténone pure dont la formule développée est la suivante :



Insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques, la molécule de roténone est sensible à la lumière et à l'oxygène de l'air.

Mode d'action et toxicité

L'Agri 2001 agit sur le système nerveux au niveau des ganglions cérébroïdes, des animaux à sang froid, les insectes en particulier (sauf les guêpes et les abeilles) ; il est sans action sur les animaux à sang chaud qui ont les systèmes enzymatiques pour le dégrader. Il est très toxique pour les poissons, la concentration létale 50 % étant comprise entre 0,1 et 1 ppm. Par contre il est sans danger pour l'homme et n'est pas rémanent : sa biodégradation en produits inoffensifs se fait dans un délai de 24 heures à plusieurs jours en fonction de la température du milieu et de l'éclairement.

C - SPICA 103 TDA

Le Spica 103 TDA est un herbicide à large spectre d'activité, dont la rémanence est de 2 à 3 ans dans le sol. Il se présente comme un liquide épais et est utilisé pour l'entretien des voies ferrées à raison de 10 à 35 l par hectare.

Composition

C'est un mélange de trois composés actifs à la concentration de 332,5 g/l dans les proportions suivantes :

- 140 g/l d'atrazine
(2 chloro - 4 éthylamino - 6 isopropylamino s-triazine)
- 174 g/l d'aminotriazole (3 amino - 1,2,4 triazole)
- 17,4 g/l de tebuthiuron
(1-(5 ter butyl-1,3,4-thiadiazol 2-yl) 1,3 dimethylurée)

Cette solution - suspension est soluble dans l'eau en toutes proportions.

Mode d'action et toxicité

L'action des trois composés intervient à différents niveaux dans la physiologie des plantes et est échelonnée dans le temps.

L'aminotriazole agit en premier, sa durée de vie dans le sol est courte : environ 5 à 10 semaines. Il inhibe notablement la formation des chloroplastes et a tendance à s'accumuler dans les zones méristématiques.

L'atrazine comme beaucoup de triazines renforce cette inhibition de la fonction chlorophyllienne en bloquant le transport d'oxygène lors de la première étape de la photosynthèse.

Le tebuthiuron agit en dernier au niveau des racines et comme il se dégrade très lentement dans le sol il confère une rémanence de très longue durée au Spica 103 TDA (de l'ordre de plusieurs mois à un an). La toxicité de ce produit est pratiquement nulle pour l'homme et les animaux à sang chaud.

Les doses létales 50 % représentant la quantité de matière active pure suffisante pour tuer 50 % des rats traités sont pour chacun des composés :

atrazine	:	3 080 mg/kg par ingestion
aminotriazole	:	2 460 " " "
tebuthiuron	:	644 " " "

V - RESULTATS

A - ABATE 500 E

1°) Action sur le phytoplancton

Les résultats sont représentés par les courbes de croissance, c'est-à-dire par la variation du nombre des cellules (ou du log. de ce nombre suivant les cas) en fonction du temps.

L'action sur la croissance des diatomées (fig. 4) se manifeste dès 0,5 ppm avec un retard par rapport au témoin : à 1 ppm le taux de croissance est nettement ralenti pour *S. costatum* et *N. ostrearia*. Le développement de *C. granii* ne diffère pas du témoin les premiers jours mais il est considérablement perturbé par la suite, quelle que soit la concentration en Abate.

Par contre à des concentrations identiques, l'Abate ne semble pas avoir d'action sur la croissance des flagellés (fig. 5) ; la courbe obtenue pour 1 ppm avec *P. lutheri* s'éloigne un peu de la courbe témoin mais la concentration cellulaire au bout de 23 jours reste très proche de celle observée chez le témoin.

2°) Action sur le zooplancton

Crevette rose

L'action éventuelle de l'Abate peut être observée à deux niveaux : en considérant la mortalité d'une part et la fréquence des mues d'autre part.

La courbe résultant du pourcentage de mortalité en fonction du temps (fig. 6) montre qu'à 0,5 ppm, l'Abate a un effet toxique net avec 50 % de mortalité au 9ème jour ; par contre aux concentrations inférieures il n'y a pas d'effet significatif.

Si on considère maintenant les diagrammes des pourcentages de mues des survivants en fonction du temps, on constate que l'effet ne se manifeste pas au premier stade larvaire : les mues étant synchrones avec les témoins et quantitativement à peu près identiques.

C'est surtout le troisième stade larvaire qui est affecté, le nombre de mues étant en diminution : à 0,1 ppm 50 % de mues sont enregistrés au 12ème jour au lieu de 71 % pour les témoins. A 0,5 ppm ce nombre tombe à moins de 10 %, d'ailleurs à cette concentration les mortalités apparaissent surtout après le 2ème stade.

Copépodes

Nous avons représenté (fig. 7) le nombre d'individus relevé au cours d'un cycle complet dans un échantillon de 100 ml en distinguant les trois stades de croissance : nauplii, copépodites et adultes, ceci pour chaque concentration testée.

- Témoin
- 0,1 ppm
- △ 0,5 ppm
- 1 ppm

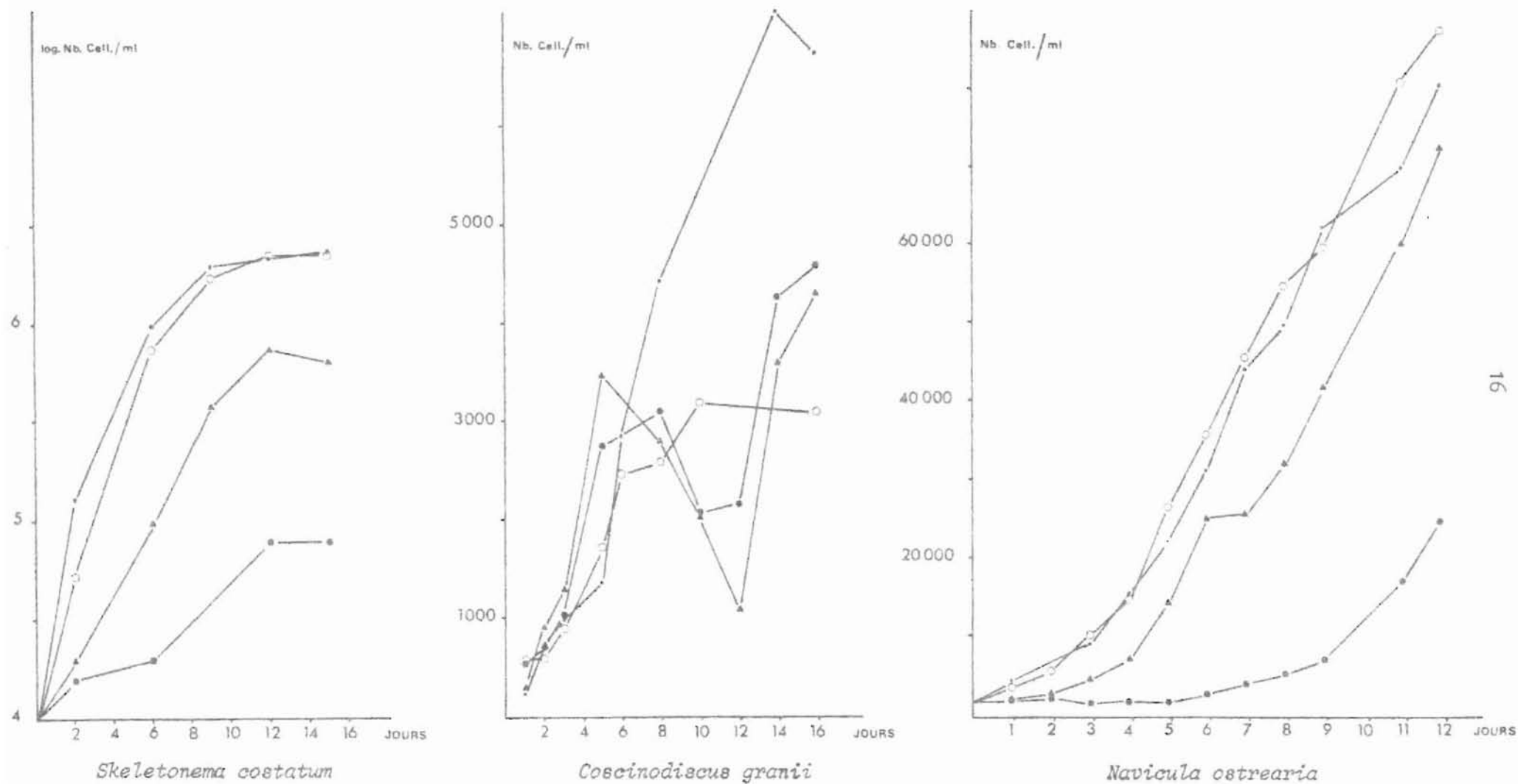
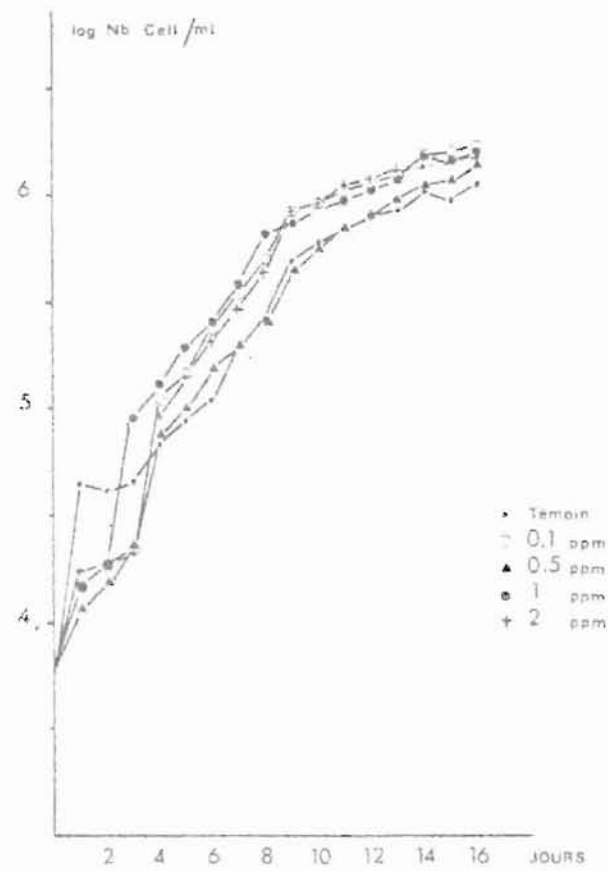
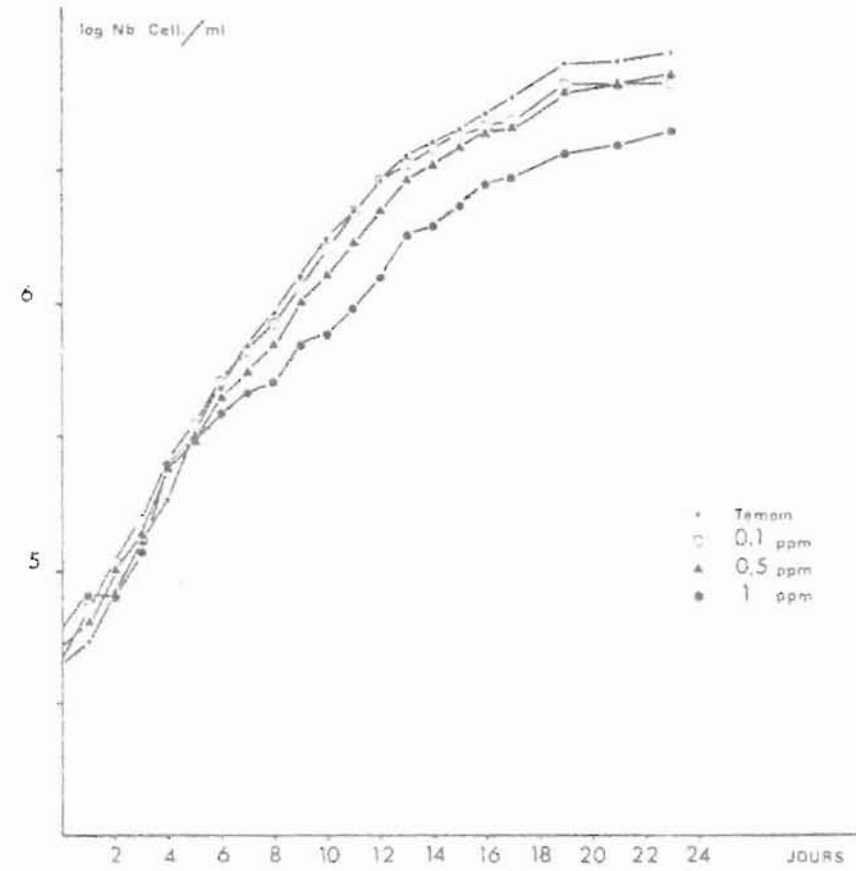


Fig. 4.- Croissance cellulaire des diatomées en présence d'Abate à différentes concentrations.



Tetraselmis suebica



Pavlova lutheri

Fig. 5.—Croissance cellulaire des flagellés en présence d'Abate à différentes concentrations

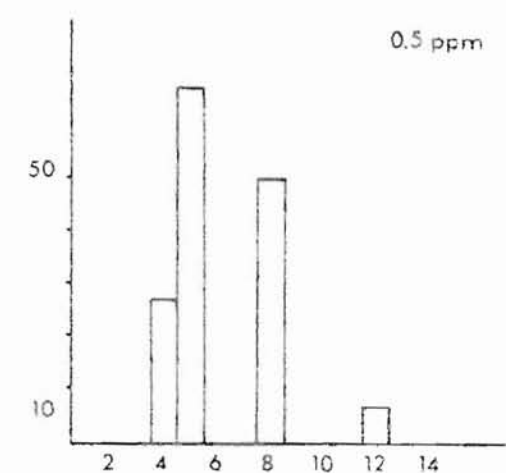
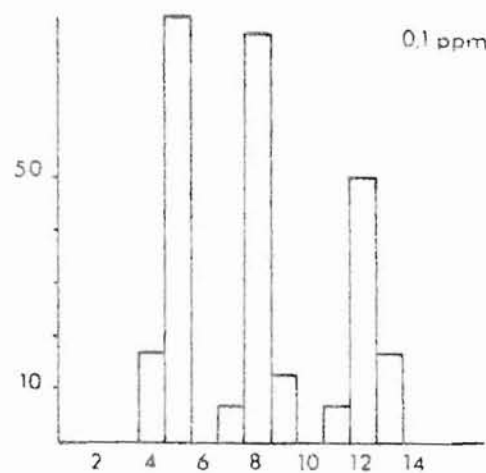
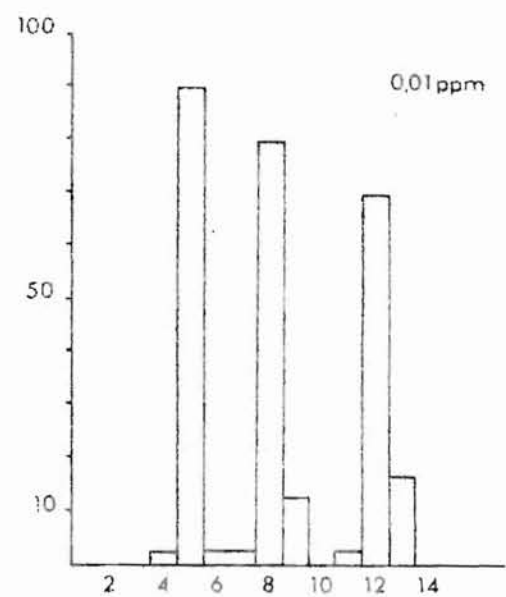
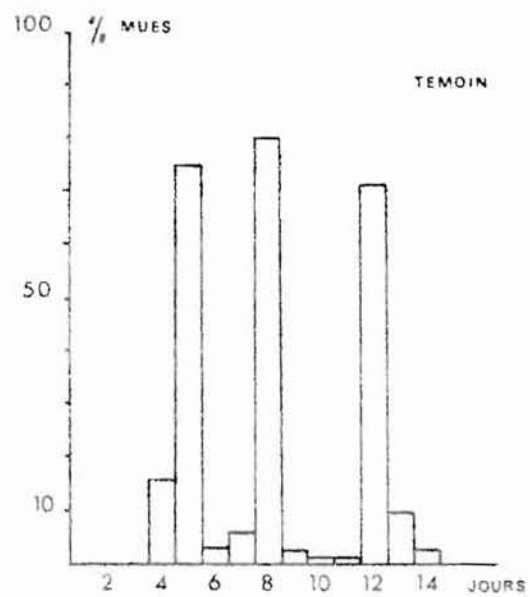
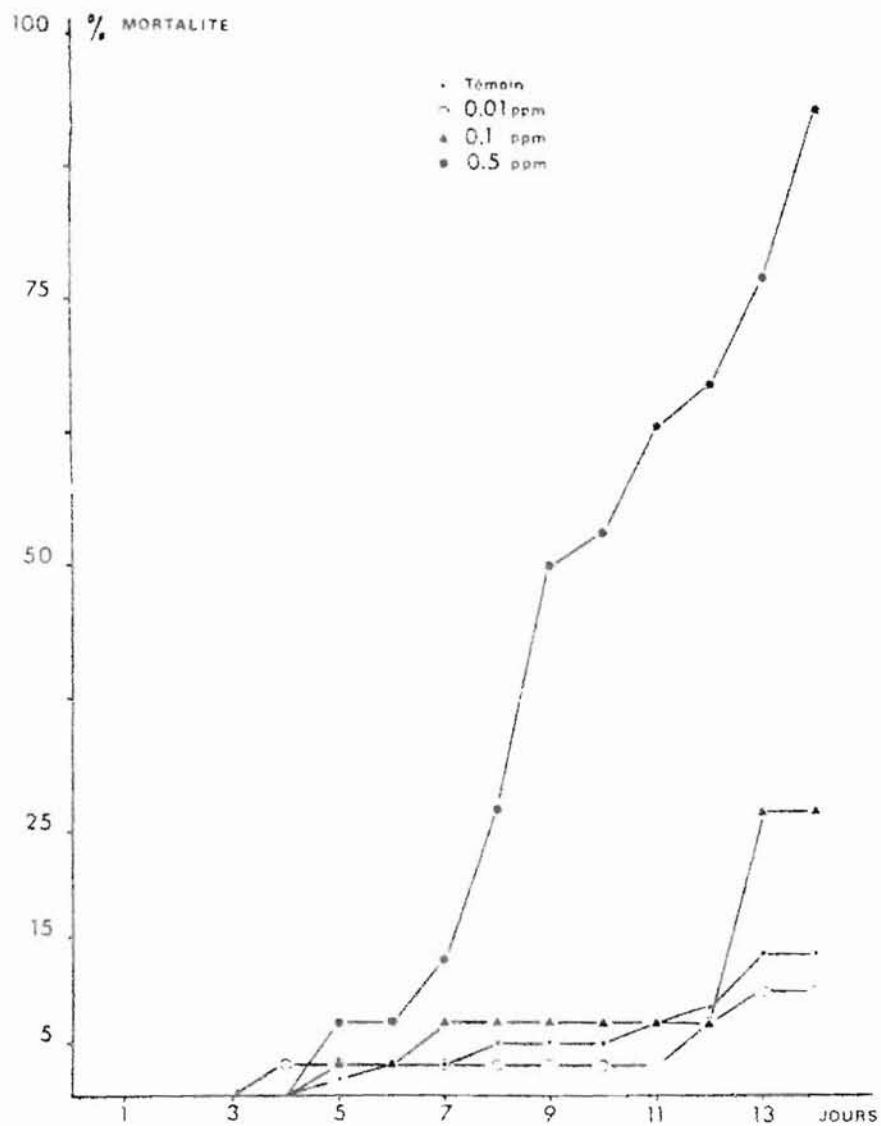


Fig. 6. - Courbe des pourcentages de mortalité et diagrammes des pourcentages de mues de la larve de *P. serratus* exposée à différentes concentrations d'Abate.

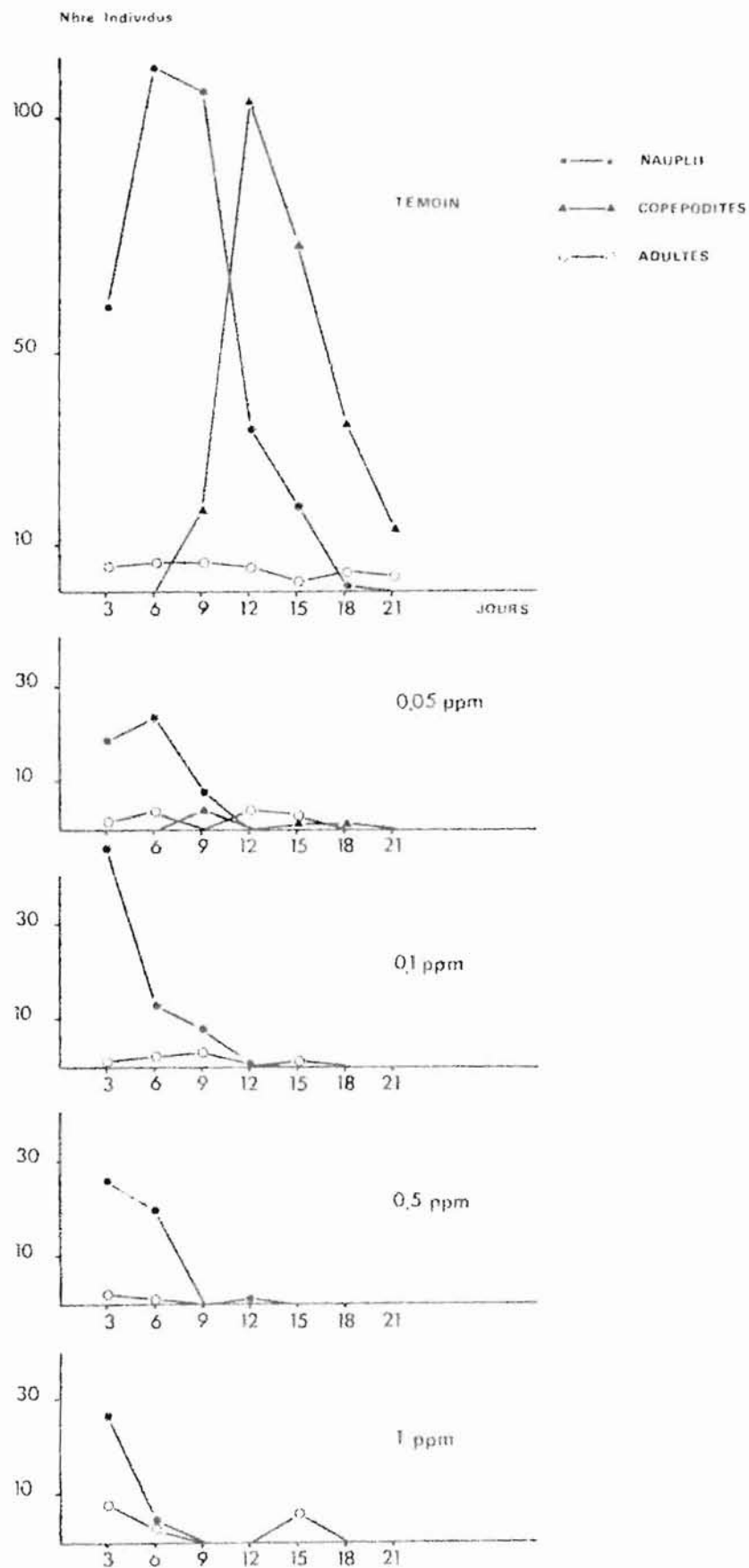


Fig. 7.- Développement de population de *T. brevicornis* issue de 100 femelles ovigères et exposée à différentes concentrations d'Abate.

Dès 0,05 ppm la production de nauplii est affectée, d'ailleurs l'observation à la loupe binoculaire permet de constater qu'à chaque concentration testée de nombreux sacs ovigères émis n'avaient pas éclos. Pour les concentrations supérieures à 0,05 ppm la mortalité apparaît dès le 3ème jour et elle est totale au-delà du 9ème jour. En conséquence on ne dénombre pas de copépodites pour ces concentrations, la transformation de nauplii en copépodites n'existe qu'à 0,05 ppm.

Le milieu nutritionnel a été suivi tout le temps de l'expérimentation par comptage des cellules algales, il n'a pas été affecté du point de vue quantitatif et l'observation microscopique a révélé des cellules en bon état pour toutes les concentrations testées ce qui confirme les résultats obtenus sur les flagellés. On a donc pu observer les effets toxicologiques directs de l'Abate sur les copépodes.

3°) Conclusion sur l'action de l'Abate

L'Abate n'a pas d'effet sur les flagellés testés, il semblerait même activer la croissance de *Tetraselmis suecica*. Ceci peut s'expliquer par sa capacité à libérer du phosphore, facteur de croissance très important. Par contre, à la concentration de 1 ppm il inhibe notablement la croissance des diatomées testées.

Il apparaît aussi relativement toxique vis-à-vis des crustacés, mais la dose utilisée sur le terrain soit 0,02 ppm, est inférieure à la concentration où l'Abate devient actif.

P. MAGGI (1973) a comparé la toxicité de l'Abate et celle d'un autre organophosphoré le Fénitrothion. Les concentrations létales (LC 50 pour 10 jours) du premier sur deux diatomées *Phaeodactylum tricorutum* et *Gyrosigma spencerii* sont très voisines mais très supérieures à celles trouvées avec le second. L'Abate s'est avéré beaucoup moins toxique que le Fénitrothion vis-à-vis des mollusques, crustacés et poissons.

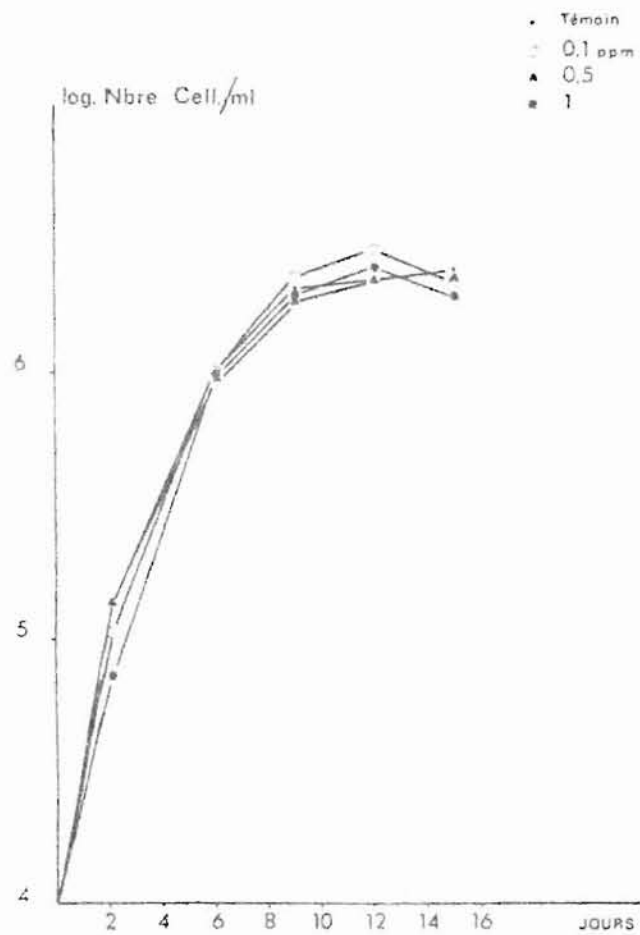
B - AGRI 2001

La roténone se dégradant partiellement à la lumière, on n'a donc pas quantifié l'effet exact du produit.

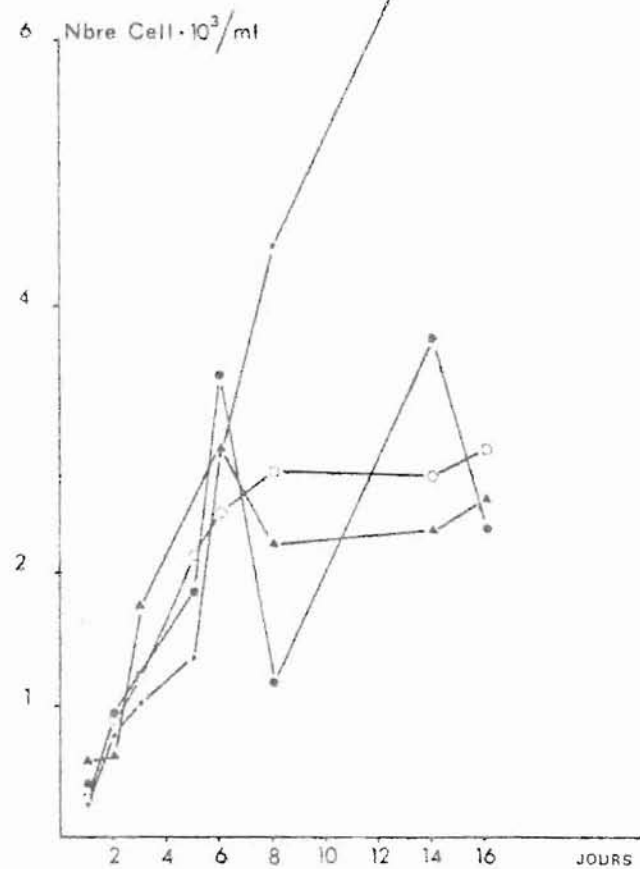
1°) Action sur le phytoplancton

Les courbes de croissance des deux diatomées testées (fig. 8) montrent que l'Agri 2001 n'a pas d'action sur *Skeletonema costatum* à la concentration la plus élevée soit 1 ppm alors qu'il inhibe la croissance de *Coscinodiscus granii* au bout du 6ème jour, sans que l'on puisse distinguer dans l'effet une gradation due à la concentration.

La croissance de *Tetraselmis suecica* (fig. 9) est notablement retardée à la concentration de 1 ppm alors qu'aux concentrations inférieures (0,5 et 0,1 ppm) il n'y a pas de différence significative par rapport au témoin. Le retard de croissance observé à 1 ppm est suivi d'une reprise au bout du 4ème jour ce qui pourrait correspondre à la dégradation de l'Agri 2001 en produits inoffensifs. A 2 ppm la culture ne récupère pas.



Skeletonema costatum

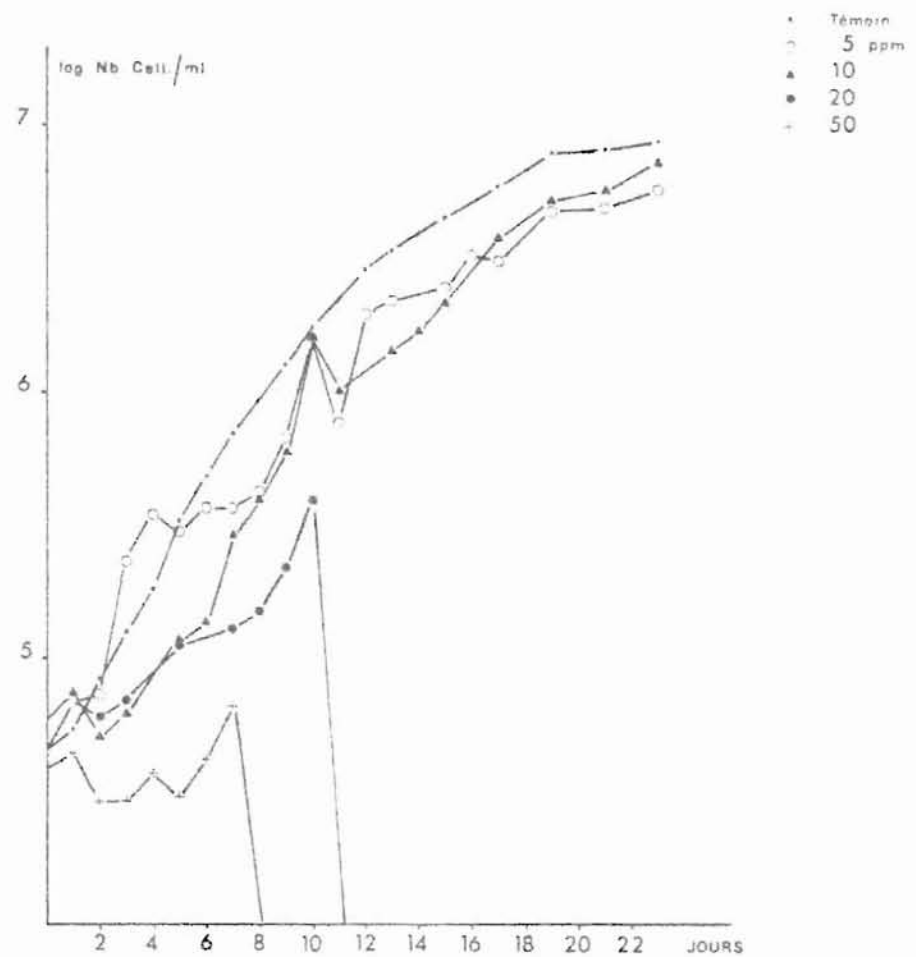


Coscinodiscus granii

Fig. 8. — Croissance cellulaire des diatomées en présence de différentes concentrations d'Agri 2001.



Tetraselmis suecica



Pavlova lutheri

Fig. 9. - Croissance cellulaire des flagellés en présence de différentes concentrations d'Agri 2001.

L'Agri aux concentrations de 5 et 10 ppm n'a pas d'effet remarquable sur *Pavlova lutheri* (fig. 9), toutefois la croissance observée est plus irrégulière que celle du témoin. Aux concentrations élevées de 20 et 50 ppm on constate un arrêt total de la croissance respectivement au bout des 7ème et 10ème jour, mais cet arrêt en raison de sa soudaineté ne peut s'interpréter que comme un artefact d'expérience.

2°) Action sur le zooplancton

Larve de crevette rose (fig. 10)

La toxicité de l'Agri 2001 se manifeste dès 0,1 ppm avec près de 40 % de mortalité au 14ème jour ; à 0,5 ppm on observe 100 % de mortalité au 8ème jour. La DL 50 se situerait donc entre ces deux valeurs. L'action au niveau de la mue s'est pas évidente.

Copépodes (fig. 11)

L'Agri 2001 affecte surtout les stades jeunes : nauplii et copépodites. Aux concentrations les plus basses la production de nauplii est comparable à celle du témoin, mais après le 9ème jour pour 5 ppm et le 6ème jour pour 10 ppm le nombre décroît rapidement jusqu'à la mortalité totale à la fin de l'expérimentation. A 20 et 50 ppm la production de nauplii est très nettement affectée et la mortalité survient aux environs du 12ème jour. La transformation de nauplii en copépodites n'est observée que pour la plus faible concentration. Les adultes semblent plus résistants mais leur population est en diminution à 20 et 50 ppm d'Agri.

Le stock alimentaire, comme nous l'avons vu, est affecté par l'action de l'Agri 2001 dès 1 ppm pour *T. suecica* et à partir de 20 ppm pour *P. lutheri*. Cependant le suivi du milieu par comptage cellulaire a montré que le nombre de cellules de *P. lutheri* s'est maintenu tout au long de l'expérimentation, ceci est dû probablement à l'apport de cellules nouvelles pour compenser le prélèvement et la diminution du stock en *T. suecica* a été observée après le 15ème jour. Nous pouvons donc penser que la mortalité des nauplii et des copépodites enregistrée avant le 15ème jour de l'expérience, n'est pas due à une carence alimentaire et que nous avons bien testé l'action de l'Agri 2001.

3°) Conclusion sur l'action de l'Agri 2001

L'Agri 2001 doit donc être utilisé avec précaution, il n'est pas sans toxicité sur le phytoplancton bien que son action se fasse sentir au-dessus de 1 ppm de produit brut et il apparaît très toxique pour les crustacés comme cela était prévisible. La larve de crevette semble être très sensible puisque la mortalité totale apparaît à une teneur de 0,5 ppm correspondant à 0,03 ppm de roténone pure.

Rappelons enfin que des analyses toxicologiques réalisées antérieurement ont révélé une nocivité de ce produit sur la civelle, avec 100 % de mortalité apparaissant en moins de 24 heures à une concentration de 0,05 ppm (rapport interne I.S.T.P.M., 1981).

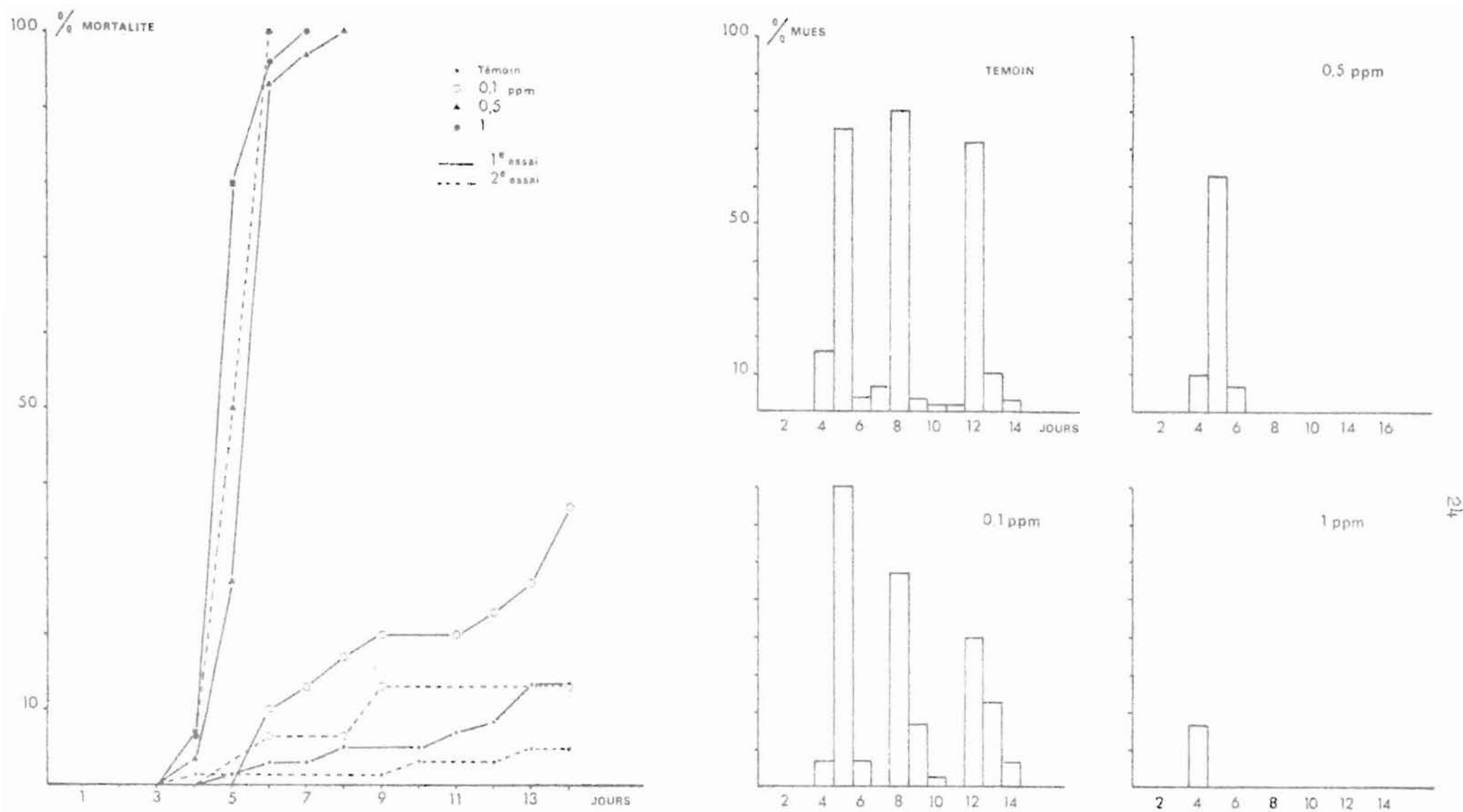


Fig. 10. — Courbe des pourcentages de mortalité et diagrammes des pourcentages de mues de la larve de *P. serratus* exposée à différentes concentrations d'Agri 2001.

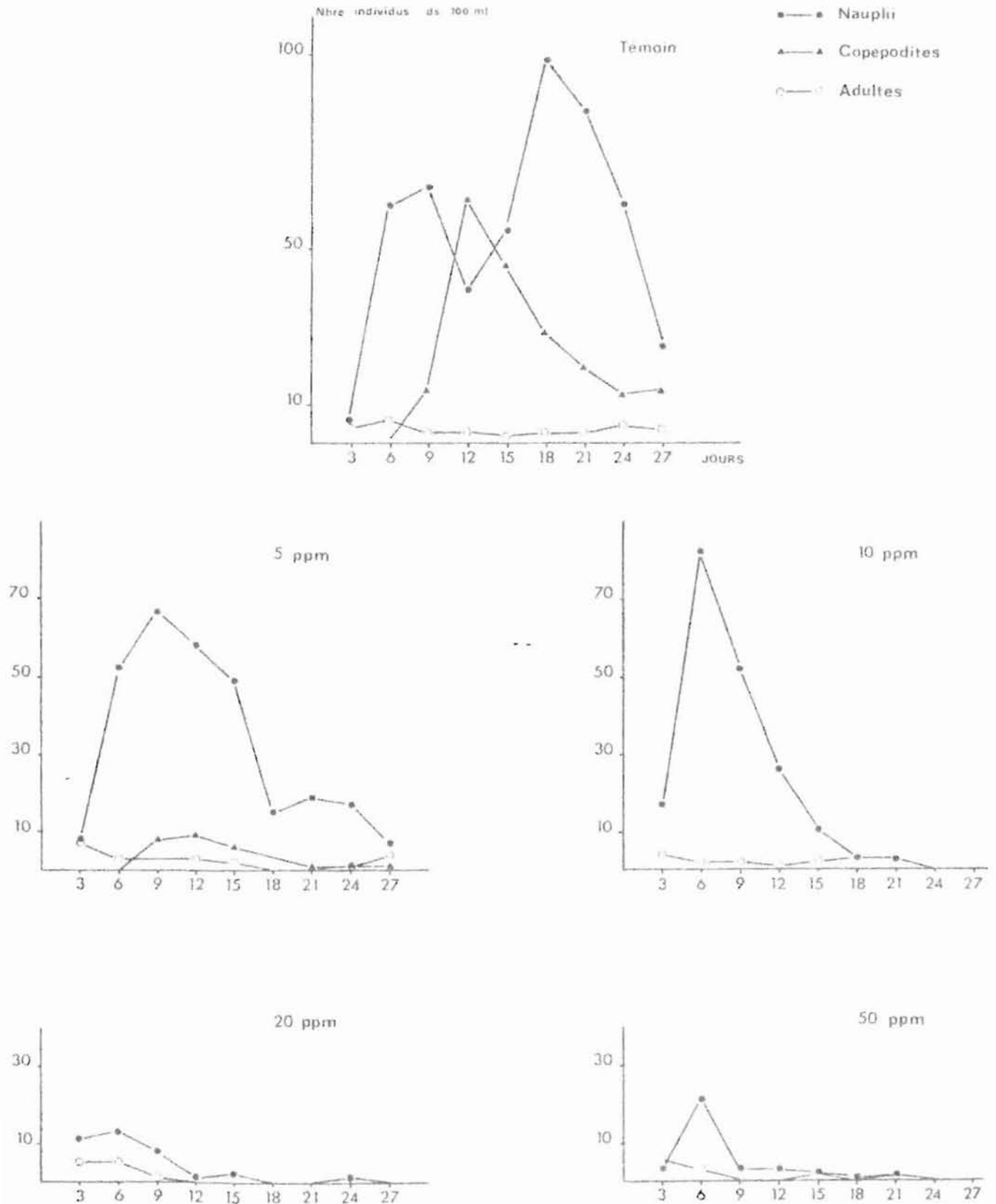


Fig. 11.— Développement de populations de *T. brevicornis* issues de 100 femelles ovigères et exposées à différentes concentrations d'Agri 2001.

C - SPICA 103 T.D.A.

1°) Action sur le phytoplancton

L'effet toxique du Spica est manifeste sur *Coscinodiscus granii* alors que la croissance de *Skeletonema costatum* ne semble pas vraiment affectée (fig. 12).

Sur *Tetraselmis suecica*, l'inhibition de la croissance est observée pour 0,5 ppm mais dès 0,1 ppm le développement est inférieur à celui du témoin (fig. 12).

2°) Action sur le zooplancton

Larve de crevette rose (fig. 13)

L'expérimentation avec 5, 10 et 20 ppm a permis de situer la concentration létale 50 % entre 5 et 10 ppm et de confirmer la toxicité du Spica à 10 ppm, valeur pour laquelle les résultats sont très proches de ceux des premiers essais. Le diagramme des pourcentages de mues en fonction du temps montre qu'elles sont synchrones avec le témoin pour 5 ppm mais à 10 ppm le pourcentage baisse notablement au moment du 2ème stade larvaire (6ème jour).

Copépodes

Des tests à court terme ont été réalisés dans un premier temps sur 30 femelles ovigères aux concentrations suivantes : 100, 200, 300, 400 et 500 ppm. Aucun effet nocif n'a été constaté sur les adultes au bout de 96 heures d'exposition, mais on a pu remarquer que les nauplii ne survivaient pas aux concentrations élevées.

Ces observations nous ont amenés à effectuer des essais sur une génération de copépodes (fig. 14).

La toxicité du Spica est immédiate dès 100 ppm sur les nauplii. L'élévation faible mais observée du nombre de nauplii aux concentrations plus élevées n'est pas significative et peut être imputée au prélèvement qui est entaché d'une certaine incertitude.

Il n'y a pas transformation en copépodites, ce qui confirme la mortalité des nauplii, alors que les adultes se montrent résistants. Par ailleurs nous ne pouvons affirmer que nous avons mis en évidence un effet toxique direct du Spica car le stock algal est sérieusement affecté par le produit à ces concentrations.

3°) Conclusion sur l'action du Spica 103 T.D.A.

L'action du Spica est surtout notable sur le phytoplancton, les effets sur les microcrustacés étant observés pour des concentrations nettement plus élevées (à partir de 5 ppm). Il n'y a pas de référence dans la littérature corroborant ces résultats si ce n'est pour l'Atrazine, un des composants du Spica pour lequel nous avons relevé des concentrations létales 50 % en 96 heures supérieures à 1 ppm pour des huîtres et des crevettes (TWEEDY et KAHR, 1978). Quand le produit est un mélange de plusieurs matières actives, le test sur la formulation totale ne permet pas de connaître le comportement des matières prises isolément.

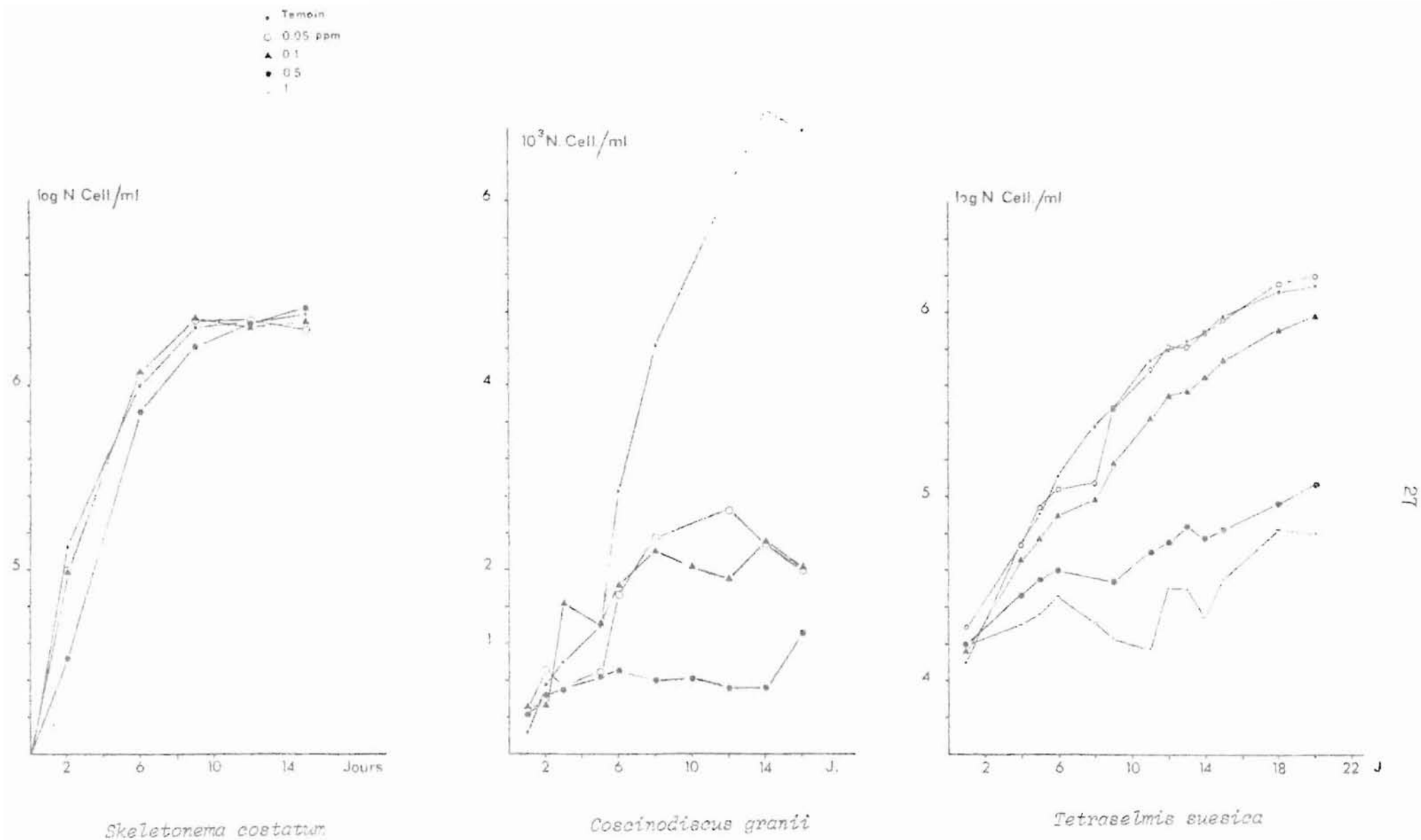


Fig. 12.— Croissance cellulaire des algues en présence de différentes concentrations de Spica 103 T.D.A.

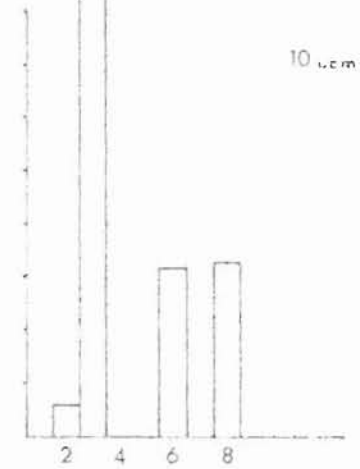
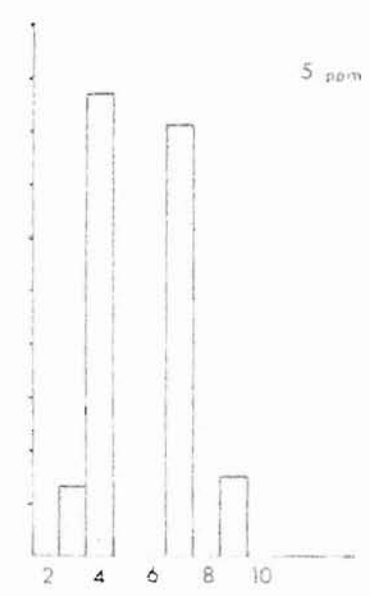
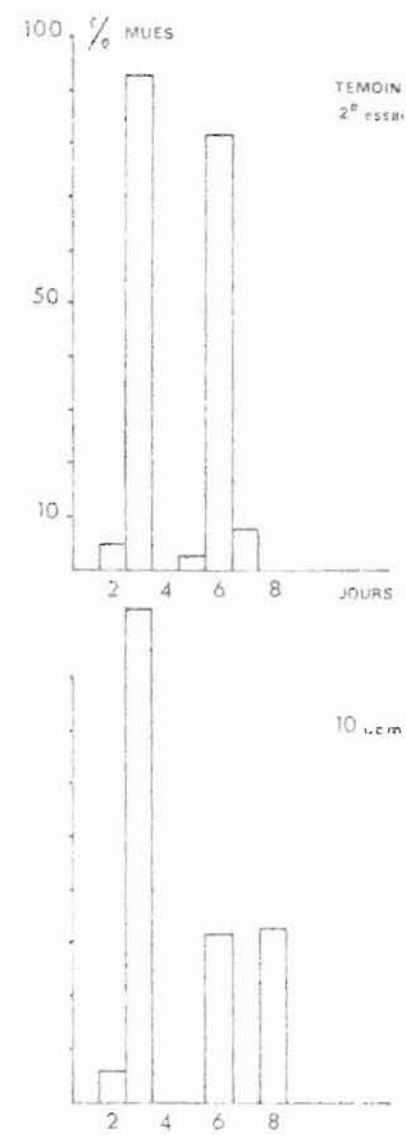
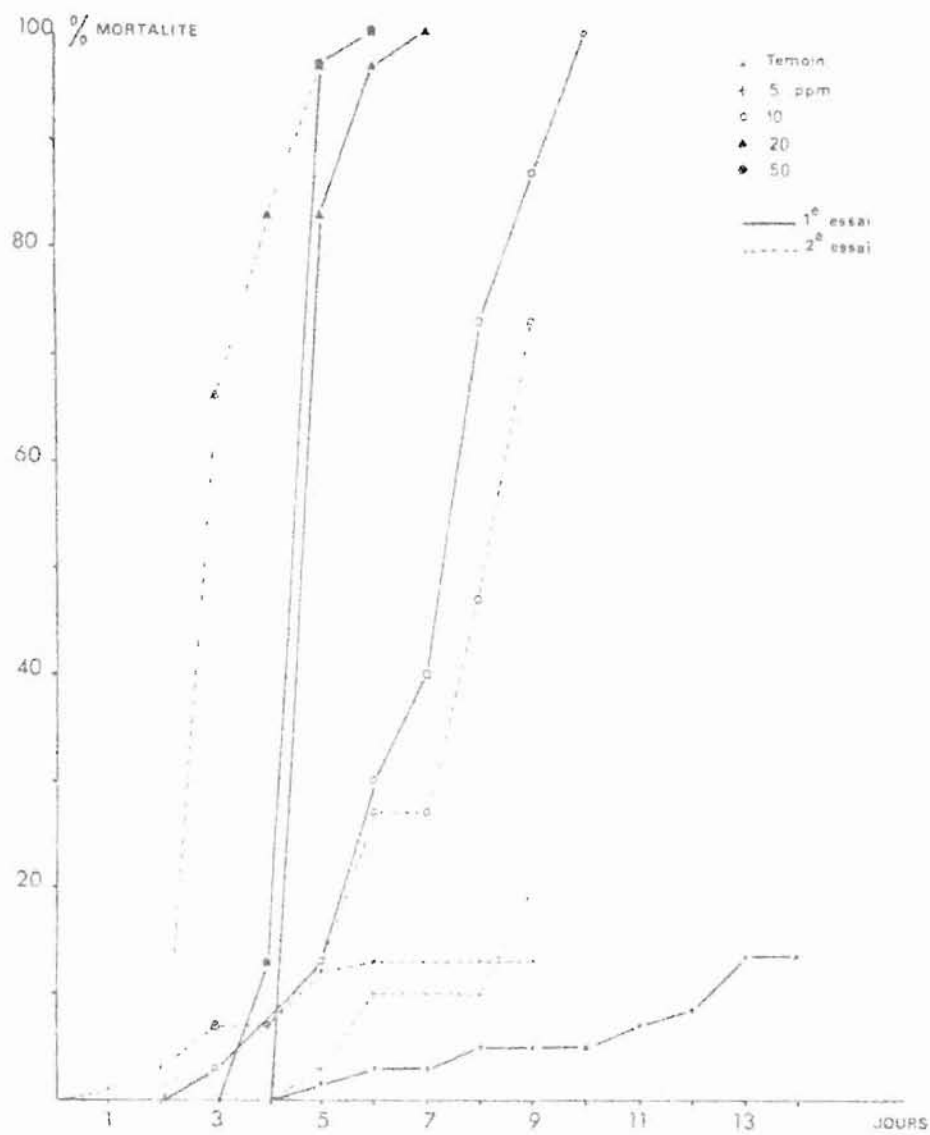


Fig. 13.- Courbe des pourcentages de mortalité et diagrammes des pourcentages de mues de la larve de *P. serratus* exposé à différentes concentrations de Spica 103 T.D.A.

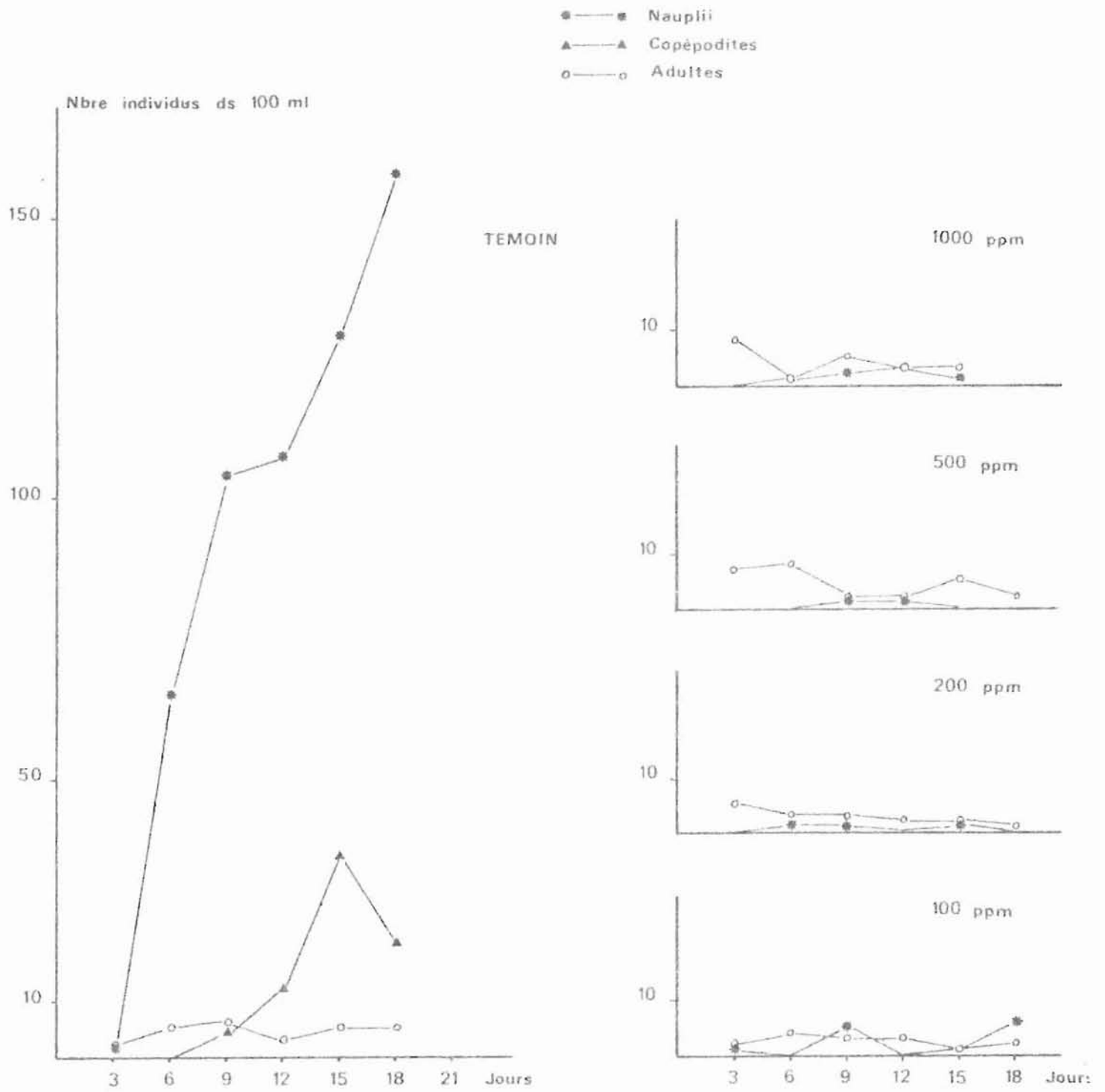


Fig. 14.—Développement de population de *T. brevicornis* issue de 100 femelles ovigères exposées à différentes concentrations de Spica 103 T.D.A.

VI - CONCLUSION

Les résultats récapitulés dans le tableau n° 1 ont été obtenus lors d'études ponctuelles ; ils sont donc parfois incomplets et imprécis mais ils nous éclairent sur le choix des espèces à utiliser pour les tests et nous apportent des indications sur la toxicité des produits étudiés.

- L'espèce idéale pour les tests doit être à la fois sensible, représentative et facile à maintenir vivante en laboratoire et pouvant s'y reproduire. Ainsi pour le phytoplancton *Oscuriodiscus granii* paraît plus sensible que *Skeletonema costatum* mais elle présente un taux de croissance irrégulier et inférieur à celui de *S. costatum*. Ceci justifie la préférence donnée à cette dernière dont le développement est convenable et reproductible. D'ailleurs *S. costatum* fait l'objet actuellement d'une standardisation de test au niveau européen en vue d'être retenue comme espèce de référence. Pour ce qui est des flagellés, *Tetraselmis suecica* semble le plus sensible, de plus il aura la préférence en raison de sa biologie et de sa valeur nutritive pour les jeunes bivalves et crustacés.

Pour ce qui est du zooplancton, avec les deux espèces de crustacés : la larve de crevette rose (*Palaemon serratus*) et le copépode (*Tigriopus brevicornis*) utilisés ici, s'ouvre la perspective de tests sublétaux. Le copépode adulte étant relativement résistant, est de ce fait d'un moindre intérêt, mais il offre la possibilité de l'observer pendant une génération et donc d'appréhender l'effet d'un produit sur la croissance de l'espèce. Chez la larve de crevette une perturbation dans le rythme des mues peut être considérée comme un signe de toxicité subaiguë. Par ailleurs on peut préciser que ces deux espèces vivent sur le littoral européen dans la zone de balancement des marées, le copépode remontant jusqu'à sa limite supérieure (dans les flaques) tandis que la crevette en dépasse en profondeur la limite inférieure.

- Les études présentées dans ce travail ont débouché sur une appréciation rapide de la toxicité des substances testées. D'après ces résultats nous pouvons avoir une idée des doses à ne pas dépasser si de tels produits étaient susceptibles d'arriver dans le milieu marin.

Nous pourrions aussi savoir, selon le type de produit que nous aurons à tester, quelle espèce il sera préférable d'utiliser.

Ainsi, le phytoplancton dans l'ensemble apparaît plus sensible aux herbicides que le zooplancton ; pour *S. costatum* le seuil (I) est inférieur à 0,05 ppm de Spica.

A l'inverse avec les insecticides les seuils de sensibilité obtenus sur le zooplancton sont inférieurs à ceux obtenus sur le phytoplancton : la DL 50 sur la larve de crevette rose est comprise entre 0,1 et 0,5 ppm pour l'Abate et l'Agri 2001, alors qu'elle est comprise entre 5 et 10 ppm pour le Spica.

Enfin avec la roténone, insecticide biologique, nous avons observé des seuils plus bas sur la civelle soit 100 % de mortalité en moins de 24 heures à 0,05 ppm. Dans ce cas le choix d'une espèce zooplanctonique n'est pas le meilleur, il serait préférable d'étudier la toxicité de ce produit sur certains poissons puisque ceux-ci apparaissent plus sensibles.

	PHYTOPLANCTON					ZOOPLANCTON	
	L'effet est estimé en calculant 50 % d'inhibition par rapport au témoin au 8ème jour soit I					Estimation de la DL 50	Effet estimé à partir de la mortalité des nauplii
	<i>N. ostrearia</i>	<i>S. costatum</i>	<i>C. granii</i>	<i>T. suecica</i>	<i>P. lutheri</i>	<i>F. serratus</i> (larves)	<i>T. brevicornis</i>
<u>ABATE</u>							
Conc. testées en ppm	0,1 - 0,5 - 1	0,1 - 0,5 - 1	0,1 - 0,5 - 1	0,1 - 0,2 - 1-2	0,1 - 0,5 - 1	0,01 - 0,1 - 0,5	0,05-0,1-0,5-1
I	0,5 < I < 1	0,5 < I < 1	0,1 < I	I > 2	I > 1	0,1 < DL50/9j. < 0,5	90% au 9 ^e j. à 0,05ppm
<u>AGRI 2001</u>							
Conc. testées en ppm	-	0,1 - 0,5 - 1	0,1 - 0,5 - 1	0,1 - 0,5 - 1-2	5 - 10 - 20 - 50	0,1 - 0,5 - 1	5 - 10 - 20 - 50
I		I > 1	I = 0,5	1 < I < 2	I > 5	0,1 < DL50/4j. < 0,5	90 % au 9ème jour à 20 ppm
<u>SPICA 103 TDA</u>							
Conc. testées	-	0,05 - 0,1 - 0,5	0,05-0,1-0,5	0,05-0,1-0,5-1	-	5 - 10 - 20 - 50	100 200 500 1000
I		I < 0,05	I < 0,05	0,05 < I < 0,1		5 < DL50/8j. < 10	pas de production de nauplii

Tabl. 1. - Récapitulation des résultats

BIBLIOGRAPHIE

- FALCHIER (M.), LASSUS (P.), BARDOUIL (M.), LE DEAN (L.), TRUQUET (P.) et BOCQUENE (G.), 1981. - Sensibilité thermique d'un copépode harpacticoïde : *Tigriopus brevicornis* (MULLER). - Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 45 (2), 141 - 153.
- FRASER (J.H.), 1936. - The occurrence, Ecology and life history of *Tigriopus fulvus* (FISHER). - J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 20 : 523 - 536.
- GREEN (J.C.), 1975. - The fine structure and taxonomy of the haptophycean flagellate *Pavlova lutheri* (DROOP) Comb. Mov. (= *Monochrysis lutheri* DROOP). - J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 55 : 785 - 793.
- INGRAM HENDEY (N.), 1964. - An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. - Her Majesty's Stationery Office, Londres.
- LASSUS (P.) et MAGGI (P.), 1980. - Utilisation des larves de crevettes roses (*Palaemon serratus* Pennant) pour le contrôle de l'impact biologique des nuisances sur le milieu marin. - Journal Français d'Hydrologie 11 (3) : 203 - 224.
- LASSUS (P.) et DEVINEAU (J.), 1981. - Utilisation de cultures d'algues unicellulaires marines en écotoxicologie. - Cons. int. Explor. Mer, Comité de la Qualité de l'Environnement marin : E/41.
- MAGGI (P.), 1973. - Toxicité relative de deux insecticides organophosphorés : l'Abate et le Fénitrothion. - Rev. Trav. Inst. Pêches marit. 37 (1) : 137 - 144.
- MARTEIL (L.), 1976. - La conchyliculture française. Deuxième partie : Biologie de l'huître et de la moule. - Rev. Trav. Inst. Pêches marit. 40 (2) : 190 - 231.
- ROBERT (J.M.), 1973. - La diatomée *Navicula ostrearia* BORY en baie de Bourgneuf. - Rev. Trav. Inst. Pêches marit., 37 (3) : 363 - 368.
- -- 1974. - Etude préliminaire des relations entre l'état de verdissement d'une claire ostréicole et l'examen biométrique de populations planctoniques et benthiques de *Navicula ostrearia* BORY pigmentée : applications. - C.R. Acad. Sci. Paris, 278 : 1405 - 1408.
- -- 1975. - Le verdissement des huîtres dans les claires de la baie de Bourgneuf. - Bull. Soc. Sci. nat. Ouest France, 73 : 123 - 129.
- -- 1977. - Premières données écologiques sur les claires à huîtres de la baie de Bourgneuf. - Bull. Ecol. 8 (1) : 57 - 62.
- TWEEDY (B.G.), KAHRIS (R.A.), 1978. - in Analytical methods for pesticides and plant growth regulators - X New and Updated methods. - Edited by Gunter Zweig - Joseph Sheima -, Londres.

RAPPORTS INTERNES A DIFFUSION RESTREINTE ET RAPPORTS DE STAGES EFFECTUES

A L'I.S.T.P.M. AU LABORATOIRE "EFFETS BIOLOGIQUES DES NUISANCES"

- Résultats d'analyses toxicologiques sur des insecticides sélectifs et leurs solvants.- 14 août 1981 - 8 pages.
- Résultats d'analyses toxicologiques sur la roténone.- 20 février 1981 - 7 pages.
- Résultats d'analyses toxicologiques sur trois desherbants commercialisés par la Société Procida.- 17 août 1981 - 10 pages.
- Biologie et élevage de deux copépodes harpacticoïdes. Application à l'écotoxicologie. - ENSAR Rennes, 1981 - 36 pages.
- Action de trois pesticides sur le copépode harpacticoïde *Tigriopus brevicornis* (Abate 500 E, Agri 2001, Spica 103 TDA). Action de ces pesticides sur *Pavlova lutheri*. - Université de Reims 1982, 45 pages.
- Détermination de l'action d'un insecticide : Abate 500 E, sur le développement larvaire d'un copépode harpacticoïde : *Tigriopus brevicornis*. - DUT Angers, 1982 - 52 pages.
- Effets de pesticides sur le développement de *Tetraselmis suecica* Kylin cultivé en milieu liquide. - Ecole Nationale Vétérinaire - Nantes, 1982 - 48 pages.